Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. J. R. Bierich

Vergleichende Untersuchungen des Gallensäuregehalts in Pankreasenzympräparaten des deutschen Marktes

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
JÖRN KÖNIG
aus Göppingen

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543903_0052

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. J. R. Bierich

Vergleichende Untersuchungen des Gallensäuregehalts in Pankreasenzympräparaten des deutschen Marktes

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
JÖRN KÖNIG
aus Göppingen

1983

Dekan:	Professor Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Professor Dr. K. H. Niessen
2. Berichterstatter:	Professor Dr. T. H. Lippert

---

gedruckt bei Firma H.- J. Köhler · Reprografischer Betrieb · Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2.	MATERIALIEN UND GERÄTE	2
2.1.	Materialien und Geräte für die enzymatische Bestimmung	2
2.1.1.	Materialien	2
2.1.2.	Geräte	2
2.2.	Materialien und Geräte für die Dünnschicht-chromatographie	2
2.2.1.	Materialien	2
2.2.2.	Geräte	4
2.3.	Untersuchte Medikamente	5
3.	ENZYMATISCHE UNTERSUCHUNGSMETHODEN	7
3.1.	Grundlagen und Durchführung	7
3.1.1.	Produktbeschreibung	7
3.1.2.	Testprinzip	7
3.1.3.	Spezifität und Interferenzen	8
3.1.4.	Durchführung der Bestimmungen	8
3.2.	Vorversuche	10
3.2.1.	Suche nach einem geeigneten Lösungsmittel	10
3.2.1.1.	Lösungsversuch mit reiner Cholsäure	11
3.2.1.2.	Lösungsversuch mit Enzym gallo sanol	11
3.2.1.3.	Lösungsversuch mit Pankreon forte	12
3.2.1.4.	Lösungsversuch mit Femkalon	12
3.2.2.	Untersuchungen zur pH - Abhängigkeit der Löslichkeit	13
3.2.2.1.	Versuch mit reiner Cholsäure	14
3.2.2.2.	Versuch mit Enzym gallo sanol	14
3.2.2.3.	Versuch mit Ozym	14
3.2.3.	Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der Löslichkeit	15
3.3.	Erstellung der Eichkurve	16
3.4.	Lösen der Medikamente für die enzymatische Bestimmung	17

		Seite
4.	ERGEBNISSE DER ENZYMATISCHEN BESTIMMUNGEN	18
4.1.	Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen der Medikamente ohne Angaben über einen Gallensäurengehalt	18
4.2.	Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen der Medikamente mit Angaben über einen Gallensäurengehalt	20
4.3.	Versuch einer 2. Extraktion der Gallensäuren aus den Lösungen der Medikamente	20
4.4.	Zusammenstellung der Ergebnisse	21
5.	DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGSMETHODEN	23
5.1.	Grundlagen der Dünnschichtchromatographie	23
5.1.1.	Lösungsmittel für die zu trennenden Substanzen	23
5.1.1.1.	Lösen der Medikamente für die dünnschichtchromatographische Analyse	24
5.1.1.2.	Lösen der reinen Gallensäuren als Vergleichslösungen für die dünnschichtchromatographische Analyse der Pankreasenzympräparate	24
5.1.2.	Laufmittel für die dünnschichtchromatographische Analyse	25
5.1.3.	Platten für die dünnschichtchromatographische Analyse	25
5.1.4.	Kammern für die dünnschichtchromatographische Analyse	25
5.2.	Durchführung der dünnschichtchromatographische Analyse	26
5.2.1.	Versuchsbedingungen	26
5.2.1.1.	Auftragen der Proben	26
5.2.1.2.	Entwicklung der Platten	26
5.2.1.3.	Fixierung und Entwicklung der Spots auf den Platten	27
5.2.2.	Bestimmung der Laufstrecken der Gallensäuren	27

Seite

5.2.3.	Bestimmung der R_f - Werte der Gallensäuren	28
5.2.4.	Vergleich der berechneten R_f - Werte mit den R_f - Werten von Usui	28
5.2.5.	Identifizierung der Gallensäuren in den Präparaten	29
5.3.	Beurteilung der Gallensäurenspots nach Qualität und Quantität	30
6.	ERGEBNISSE DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN ANALYSEN	32
6.1.	Untersuchung der Medikamente ohne Angaben über einen Gehalt an Gallensäuren	32
6.1.1.	Untersuchung der unkonjugierten Gallensäuren	32
6.1.2.	Untersuchung der konjugierten Gallensäuren	33
6.2.	Untersuchung der Medikamente mit Angaben über einen Gehalt an Gallensäuren	34
6.2.1.	Untersuchung der unkonjugierten Gallensäuren	34
6.2.2.	Untersuchung der konjugierten Gallensäuren	35
6.3.	Zusammenstellung der Ergebnisse	35
7.	DISKUSSION	36
8.	ZUSAMMENFASSUNG	53
	LITERATURVERZEICHNIS	54
	ANHANG	60
	DANKSAGUNG	
	LEBENSLAUF	

UNIV. LEIDEN BIBL.

1. Einleitung und Fragestellung

Bei der Behandlung der Pankreasinsuffizienz ist es notwendig, die vom gesunden Pankreas normalerweise gebildeten Enzyme wie α-Amylase, Lipase und Proteasen wie Trypsin, Chymotrypsin und Carboxypeptidasen zu substituieren.

Sogenannte Pankreasenzympräparate werden von der pharmazeutischen Industrie zu einem großen Teil mit einem Gallezusatz hergestellt. Zumeist findet gereinigte trockene Ochsengalle Verwendung, einige wenige Präparate enthalten Schweinegalle. Lediglich einem Medikament wurde nur eine einzelne Gallensäure zugesetzt, während es sich bei den anderen Medikamenten um ein Spektrum mehrerer Gallensäuren handelt.

Zum Enzymgehalt dieser Präparate wurden bisher einige Untersuchungen durchgeführt und publiziert. Im Rahmen von jüngst im gleichen Hause erstellten Arbeiten über Pankreasenzympräparate sollte nun auch eine vergleichende Untersuchung des Gallensäurengehalts dieser Medikamente durchgeführt werden.

So wurden in dieser Arbeit dieselben 27 Präparate untersucht, die in den vorausgegangenen Arbeiten zum einen auf ihre Enzymaktivitäten und zum anderen auf ihren Puringehalt überprüft worden waren.

Der quantitativen Bestimmung der Präparate mit einem Enzymkit schloß sich eine qualitative Analyse an. Die Auftrennung und Identifizierung der Gallensäuren wurde dabei dünnschichtchromatographisch vorgenommen.

Dadurch soll eine Aussage über das Spektrum der Gallensäuren in den Gallebeimischungen der verschiedenen Pankreasenzympräparaten gemacht werden.

Die enzymatische Untersuchung ermöglicht eine vergleichende Bestimmung der in den Medikamenten vorliegenden Mengen an Gallensäuren.

2. Materialien und Geräte

2.1. Materialien und Geräte für die enzymatische Bestimmung

2.1.1. Materialien

1. N, N-Dimethylformamid, No. D-4254
   Fa. Sigma Chemical Co. Lot. 116 C-0112
   St. Louis, Mo 63178 USA

2. Cholsäure, krist. reinst
   Fa. Serva Art. 17118

3. Enzymkit Sterognost - 3α
   Fa. NYEGAARD & CO AS OSLO
   Postbox 4220 Torshov
   Oslo 4, Norway

   Kit: Batch-No. 65
   Hydrazin-Hydrat: Batch-No. 16

2.1.2 Geräte

1. Spektralphotometer PM Q II und
   Verstärker M 4 Q III
   Fa. Carl Zeiss, Oberkochen
   QS-Küvetten, Schichtdicke 1 cm

2. Ultra-Thermostat Typ NBD Nr. 5318
   Fa. Köttermann

2.2. Materialien und Geräte für die Dünnschichtchromatographie

2.2.1. Materialien

1. Cholsäure, krist. reinst
   Fa. Serva Art. 17118

2. Desoxycholsäure, reinst
   Fa. Serva Art. 18320

3. Chenodesoxycholsäure, reinst
   Fa. Welding Lot. 20366

4. Lithocholsäure, p.A. 99 %
   Fa. Serva Art. 28060

5. Dehydrocholsäure, p.A. 99 %
   Fa. Serva Art. 18170

6. Glycocholsäure (Na^+), A grade Calbiochem
   Lot. 410026 San Diego

7. Glycodeoxycholsäure (Na^+), A grade "
   Lot. 410078

8. Glycochenodeoxycholsäure (Na^+), A grade "
   Lot. 210181

9. Glycolithocholsäure (Na^+), A grade "
   Lot. 410126

10. Glycodehydrocholsäure (Na^+), A grade "
    Lot. 210207

11. Taurocholsäure (Na^+), A grade "
    Lot. 310142

12. Taurodeoxycholsäure (Na^+), A grade "
    Lot. 310105

13. Taurochenodeoxycholsäure (Na^+), A grade "
    Lot. 310013

14. Taurolithocholsäure (Na^+), A grade "
    Lot. 901160

15. Taurodehydrocholsäure (Na^+) A grade Calbiochem
Lot. 100161 San Diego

16. Ochsengalle getrocknet, gereinigt
Fa. Merck Art. 3755
Gehalt an Gallensäuren 40 % (berechnet
als Cholsäure und auf wasserfreie Substanz)

17. Essigsäureäthylester, mind. 99,5 %
Fa. Merck Art. 9623

18. Essigsäure 100 % (≈1,05) mind. 99,8 %
Fa. Merck Art. 63

19. Schwefelsäure, 95-98 % (≈1,84) reinst
Fa. Merck Art. 713

20. Di-isopropyläther (zur Synthese) Gehalt 98 %
Fa. Merck Art. 800866

21. Iso-octan (zur Synthese), 98 %
Fa. Merck Art. 821627

2.2.2. Geräte

1. DC - Kieselgelplatten 60, ohne Fluoreszenz-
indikator, 20x20 cm, Schichtdicke 0,25 mm
Fa. Merck Art. 5721

2. Filterpapier für die Gasraumsättigung in
der Dünnschichtchromatographie
Fa. Desaga, Heidelberg, Best.-Nr. 120179

3. Glaskammern zur Dünnschichtchromatographie
Fa. Desaga, Heidelberg

4. HC - Multispotter
Fa. A I S (Analytical Instrument Specialities)

2.3. Untersuchte Medikamente

Medikament	Gallensäurengehalt laut Hersteller
1) Bilipeptal forte	50 mg Gesamtgallensäuren (Fel suis)
2) Combiase spezial	30 mg Fel tauri dep. sicc. U.S.N.F.XI
3) Combizym compositum	60 mg Fel tauri dep. sicc. U.S.N.F.XI
4) Cotazym Kapseln	Ø
5) Enzymase	40 mg konzentrierte Frischgalle
6) Enzym gallo sanol	60 mg Fel tauri sicc. (entspr. 27-30 mg Gallensäuren ber. als Cholsäure)
7) Enzypan plus	50 mg Galle
8) Femkalon	50 mg Fel tauri dep. sicc. mit mind. 17,50 mg Gesamtcholsäure
9) Fermento duodenal	Ø
10) Ferm. duo. f. Kinder	Ø
11) Fermento sanol (rot)	50 mg Fel tauri sicc. stand. (mind. 45 % Gallensäuren)
12) Festal	25 mg Fel tauri dep. sicc. (gereinigte, trockene Ochsengalle)
13) Gillazym Sandoz	180 mg Dehydrocholsäure
14) Helopanzym	50 mg Fel suis depuratum siccum
15) Lipazym	Ø
16) Nutrizym Merck	30 mg Fel tauri
17) Ozym	50 mg Fel suis getrocknet
18) Pankrease	Ø
19) Pankreatan	Ø
20) Pankreatan forte	Ø
21) Pankreon	Ø
22) Pankreon compositum	50 mg Fel tauri sicc. (Galle Dispert)
23) Pankreon forte	75 mg Fel tauri sicc. (Galle Dispert)
24) Pankreon Granulat	Ø
25) Panpur Dragées	50 mg gereinigte, trockene Ochsengalle
26) Panzynorm Pulver	Ø
27) Viokase Tabletten	Ø

Medikament	Gewicht (mg)	Chargennummer	Verfallsdatum
1) Bilipeptal forte	677,50	909	
2) Combiase spezial	548,10	70097	
3) Combizym compositum	586,20	8440040	
4) Cotazym Kapseln	447,93	Lot.-Nr.3161176381	Exp.4/80
5) Enzymase	353,90	3479	
6) Enzym gallo sanol	741,10	03960	
7) Enzypan plus	528,13	040256	
8) Femkalon	548,55	9131010	
9) Fermento duodenal	571,78	02979	
10) Ferm. duo. f. Kinder	286,73	04804	
11) Fermento sanol (rot)	688,12	03908	
12) Festal	336,12	239 C 317	
13) Gillazym Sandoz	774,73	403180	30.6.80
14) Helopanzym	284,50	3-79	30.6.82
15) Lipazym	612,10	46019 B	
16) Nutrizym Merck	554,00	K 485706	
17) Ozym	929,00	70099	
18) Pankrease	407,21	Lot.-Nr.024030 H	Oct. 1 81
19) Pankreatan	370,00	932	
20) Pankreatan forte	808,80	911	
21) Pankreon compositum	304,50	403876	
22) Pankreon forte	951,00	1364478	
23) Pankreon Granulat	500,00	584272	
24) Pankreon Tabletten	267,90	891079	
25) Panpur Dragées	980,50	79071400	
26) Panzynorm Pulver	500,00	156	
27) Viokase Tabletten	361,56	Lot.-Nr.01390102	Exp. 9/80

Spalte 1: Untersuchte Medikamente in alphabetischer Reihenfolge.

Spalte 2: Gewicht einer Tablette, Kapsel bzw. Dragée nach Ablösen der Dragiermasse bzw. Kapselhülle als Mittelwert aus 5 Messungen.

Spalte 3: Chargennummer der Medikamente

Spalte 4: Verfallsdaten der Medikamente, soweit angegeben.

3. Enzymatische Untersuchungsmethoden

3.1. Grundlagen und Durchführung

3.1.1. Produktbeschreibung

Sterognost-3α ist ein stabiler, fertiger Enzymkit zur spektrophotometrischen und spektrofluorimetrischen Bestimmung von Gallensäuren in biologischen Flüssigkeiten.

Der Kit ist aus 2 Fläschchen zusammengesetzt:

1. Sterognost-3α, eine lyophilisierte Mischung, die, garantiert bis zum Verfallsdatum, die folgenden Konzentrationen von Komponenten ergibt, wenn sie in 25 ml gelöst werden:

3α-Hydroxysteroid-Dehydrogenase (E.C.1.1.1.50)	0,07 IU/ml
NAD	0,4 mmol/l
Natriumpyrophosphat	52 mmol/l

Das Reagenz enthält zusätzlich EDTA, Saccharose und Dithiotreitol als Stabilisatoren.

2. Hydrazinhydrat, eine Flüssigkeit, die 50 ml 0,1 mol/l Hydrazinhydrat pH 9 enthält.

1 IU ist die Menge eines Enzyms, die 1 µmol Substrat bei 25°C und pH 9,5 pro Minute umsetzt.

3.1.2. Testprinzip

Die Methode basiert auf dem Enzym 3α-Hydroxysteroid-Dehydrogenase (3α-HSD), die die 3α-Hydroxygruppe von Steroiden mit C 19, C 21 und C 24 - Atomen einschließlich der Glycin- und Taurinkonjugate der letzteren in ihre korrespondierenden Ketoformen überführt (33, 39). Anschließend entsteht aus NAD^+ NADH.

$$3\alpha\text{-Hydroxysteroid} + NAD^+ \underset{\leftarrow\text{---------}}{\overset{\text{pH } 9,0}{\text{---------}\rightarrow}} 3\text{-Ketosteroid} + NADH + H^+$$

3.1.3. Spezifität und Interferenzen

Die 3α-HSD ist ein von Pseudomonas testosteroni (ATCC 11996) gebildetes Enzym, wenn dieser Mikroorganismus auf einem Steroide enthaltendem Medium gezüchtet wird (50).
Die 3α-HSD-Zubereitung, die in Sterognost-3α benutzt wird, ist hochgereinigt und enthält keine interferierende Dehydrogenasen, wie zum Beispiel 7α-HSD, 12α-HSD, 3β-HSD oder Alkoholdehydrogenase.

Die Spezifität und die Charakteristika des Enzyms sind genau beschrieben (10, 50). Die Gallensäuren sind zwar Steroide der C-24 - Reihe, aber das Enzym 3α-HSD ist auch in der Lage, Steroide der C-19 und C-21 - Reihe als Substrate umzusetzen. Die letztgenannten Steroidgruppen ergeben jedoch keine Interferenzen mit den Gallensäurenproben, da sie beide im Serum, in der Galle und in Duodenalaspiraten durch ihre 3α-Hydroxylgruppe immer mit Sulfaten oder Glucuroniden gekoppelt sind. Durch den Katabolismus von Bakterien finden sich jedoch im Stuhl eine Menge an Steroiden, die mit den Gallesäureproben interferieren können. In welchem Umfang solche Interferenzen im Stuhl vorkommen, ist gegenwärtig unbekannt.

3.1.4. Durchführung der Bestimmungen

Zur Herstellung des Kits wurde zunächst der Inhalt eines Fläschchens Sterognost-3α in 25 ml 0,1 m/l Hydrazinhydrat pH 9,5 gelöst.
Bei der Mischung der Proben und Reagentien wurde nach folgendem Schema vorgegangen:

Röhrchen Nr.	Sterognost-3α-Lösung	Hydrazin-hydrat	Methanol	Probe	Probenlösungs-mittel
I	2,5 ml	-	0,5 ml	10 µl	-
II	-	2,5 ml	0,5 ml	10 µl	-
III	2,5 ml	-	0,5 ml	-	10 µl
IV	-	2,5 ml	0,5 ml	-	10 µl

Die Röhrchen I und II waren dabei zu bestimmende Probe (I) und der zugehörige Leerwert (II) und mußten daher bei jeder Bestimmung hergestellt werden.
Da sich zwischen der Sterognost-3α -Lösung und dem Hydrazinhydrat Unterschiede in der Absorption ergeben können, wurden die Rohrchen III und IV bestimmt, die die Absorption der Sterognost-3α -Lösung (III) und des Hydrazinhydrats (IV) messen und zur Korrektur der reinen Absorption herangezogen werden müssen. Es ist ausreichend, diese beiden Werte für jede Folge von Bestimmungen, die auf dieselbe Weise und mit den gleichen Lösungen ausgeführt werden, nur einmal zu messen.

Nach dem oben aufgeführten Schema wurde nun in jedes Teströhrchen (I-IV) 0,5 ml Methanol und je nach Funktion des Röhrchens als Probenmeßwert (I), Probenleerwert (II) oder Korrekturwerte (III+IV), 2,5 ml Sterognost-3α -Lösung, 2,5 ml Hydrazinhydrat, 10 µl Probe oder 10 µl Probenlösungsmittel pipettiert.
Die Ansätze wurde nach gründlichem Mischen bei Raumtemperatur 30 min inkubiert und danach die Absorption A I bis A IV in den Röhrchen I bis IV im Spektrophotometer bei 340 nm gegen Wasser abgelesen.
Bei sehr geringen Gallensäurenkonzentrationen wurden größere Volumina als 10 µl verwendet.

Die reine Absorption, die durch die enzymatische Oxydation der Gallensäuren in der Probe entwickelt wird, wird mit der folgenden Formel berechnet:

$$A = (A\ I - A\ II) - (A\ III - A\ IV)$$

Vom Hersteller des Kits wird nun eine Formel zur Berechnung der Konzentration der Gallensäuren angeboten, die auf dem theoretischen Extinktionskoeffizienten von NADH basiert. Der Hersteller betont jedoch dabei, daß bei dieser Methode eine ausgedehnte Kalibrierung von Pipetten notwendig ist, falls eine hohe Genauigkeit gefordert wird und empfiehlt daher,

die Konzentration der Gallensäuren in den Proben unter Verwendung einer Standardkurve zu bestimmen. Laut Hersteller ist eine lineare Standardkurve im Bereich von 0-50 mmol Gallensäuren pro l biologischer Flüssigkeit zu erwarten. Zur Bestimmung der Eichgeraden werden vom Hersteller des Kits primäre Standards von den Gallensäuren oder ihren Na^+-Salzen empfohlen, die handelsüblich erhältlich sind.
Nach einigen orientierenden Vorversuchen wurde auf diese Art und Weise dann die Eichkurve zur enzymatischen Bestimmung erstellt (3.3. Erstellung der Eichkurve).
In verschiedenen anderen Arbeiten der Literatur wurde bereits über eine zuverlässige und erfolgreiche Anwendung dieses Enzymkits berichtet (9, 10, 39, 53).

3.2. Vorversuche

Ziel der Vorversuche war es, die optimalen Bedingungen zu finden, bei denen sich die pulverisierten Tabletten bzw. Dragées respektive die darin enthaltenen Gallensäuren möglichst weitgehend lösen. Damit sind sie dann der enzymatischen Bestimmung zugänglich.
Es galt das beste Lösungsmittel, sowie den optimalen pH- und Temperaturbereich herauszufinden, um den größten Teil der Gallensäuren bereits im ersten Ansatz lösen und bestimmen zu können. Damit könnte dann die Zahl der noch eventuell notwendigen weiteren Extraktionen klein gehalten werden.

3.2.1. Suche nach einem geeigneten Lösungsmittel

Das Löslichkeitsverhalten der Gallensäuren wurde mit fünf, zum Teil in anderen Arbeiten beschriebenen Lösungsmitteln untersucht (7, 11, 39, 59). Es waren dies:

1.) Chloroform - Methanol 2 : 1
2.) Benzol - Methanol 10 : 1
3.) N,N-Dimethylformamid - Chloroform 1 : 25
4.) Äthanol - Wasser 3 : 1
5.) 0,15 m NaCl

Mit diesen fünf Lösungsmitteln wurden die drei Medikamente Enzym gallo sanol, Pankreon forte und Femkalon sowie reine Cholsäure getestet.

3.2.1.1. Lösungsversuch mit reiner Cholsäure

Es wurden jeweils 100 mg reine Cholsäure in 5 ml der verschiedenen Lösungsmittel gelöst. Nach intensivem Rühren auf einem Magnetrührer wurden die Ansätze einen Tag später zentrifugiert und mit dem Enzymkit Sterognost-3α bei 340 nm gegen Wasser spektrophotometrisch bestimmt.

Es wurden pro Lösungsmittel jeweils 3 Proben bestimmt. Das Probenvolumen betrug jeweils 10 µl.

Die Messungen ergaben teilweise stärker differierende Extinktionswerte der Proben 1-3 bei ein und demselben Lösungsmittel. Sie sind dadurch zu erklären, daß eben diese Lösungsmittel schon bei Raumtemperatur leicht verdampfen und sich dadurch die Konzentrationen der Gallensäuren erhöhen. Dies ändert jedoch nichts an der Tatsache, daß das Lösungsmittel L IV (Äthanol - Wasser 3 : 1) die deutlich besten Werte, d.h. die höchsten Extinktionswerte lieferte. Ihm am nächsten kam das Lösungsmittel L I (Chloroform - Methanol 2 : 1). Doch auch bei diesem ergaben sich die schon oben genannten Schwierigkeiten durch Verdampfen des Lösungsmittels, was in der Folge außerordentliche Probleme bei der Konstanthaltung der Versuchsbedingungen mit sich gebracht hätte.

Die Zusammenstellungen der Meßwerte in tabellarischer Form und eine Gesamtübersicht sind im Anhang zusammengestellt.

3.2.1.2. Lösungsversuch mit Enzym gallo sanol

Nachdem die Tablettenproben von ihrer Hülle bzw. Dragiermasse mit Hilfe einer auf pH 9 eingestellten Lösung (NaOH) befreit worden waren, wurden sie in einem Mörser zu feinstem

Pulver zermahlen und jeweils 1600 mg in den verschiedenen Lösungsmitteln gelöst. Wegen der großen Mengen wurden die Tablettenproben in je 25 ml der Lösungsmittel L I bis L IV gelöst; dafür wurde das Probenvolumen auf 50 µl erhöht. Mit den Ansätzen wurde, wie unter 3.2.1.1. beschrieben, weiter verfahren.

Die Messungen ergaben auch hier die eindeutig höchsten Extinktionswerte beim Lösungsmittel L IV. Die anderen vier Lösungsmittel lagen mit ihren Extinktionen deutlich unter diesen Werten. Zudem ergaben die Messungen, wie schon beim Versuch mit reiner Cholsäure (3.2.1.1.), die kleinsten Extinktionswerte für die Probenleerwerte bei den Ansätzen von Lösungsmittel L IV. Das bedeutet, daß nach dem Zentrifugieren der Ansätze bei L IV die klarste Lösung, d.h. die Lösung mit den geringsten Verunreinigungen vorliegt, eine wichtige Voraussetzung für die später folgenden exakten Messungen.

3.2.1.3. Lösungsversuch mit Pankreon forte

Die Ansätze von je 2000 mg pulverisiertem Pankreon forte in jeweils 25 ml der verschiedenen Lösungsmittel wurden nach bewährtem Schema hergestellt und weiterbehandelt (siehe 3.2.1.2. und 3.2.1.1.).
Die enzymatischen Bestimmungen führten zu einer Bestätigung der Ergebnisse der Lösungsversuche mit reiner Cholsäure und dem Medikament Enzym gallo sanol. Auch in diesem Versuch erwies sich das Lösungsmittel L IV als geeignetstes Medium zur Lösung der Gallensäuren aus der Medikamentenzubereitung. Die gemessenen Extinktionswerte der Proben waren die deutlich höchsten, und die Leerwerte wiesen wiederum die geringsten Extinktionen auf.

3.2.1.4. Lösungsversuch mit Femkalon

In den fünf verschiedenen Lösungsmitteln wurden jeweils 1000 mg pulverisiertes Femkalon gelöst. Die Verfahrensweise und die Vorbereitung auf die enzymatische Bestim-

mung lief nach demselben Muster wie bei den Versuchen mit Enzym gallo sanol und Pankreon forte ab (3.2.1.2. bzw. 3.2.1.3.).
Die gemessenen Extinktionswerte konnten bei diesem Versuch noch einmal die Ergebnisse der vorausgegangenen Untersuchungen bekräftigen. Die höchsten Extinktionswerte sprich Gallensäurenkonzentrationen wurde auch hier im Ansatz mit Lösungsmittel L IV gemessen. Wie in den bisherigen Messungen zeigten die Probenleerwerte von L IV beim Lösungsversuch mit Femkalon ebenfalls die geringsten Extinktionen.

Damit läßt sich nach den Lösungsversuchen mit reiner Cholsäure (3.2.1.1.), Enzym gallo sanol (3.2.1.2.), Pankreon forte (3.2.1.3.) und Femkalon (3.2.1.4.) festhalten, daß unter den fünf getesteten Lösungsmitteln eindeutig das Lösungsmittel L IV (Äthanol-Wasser 3:1) die höchsten Extinktionswerte und somit Gallensäurenkonzentrationen, bei gleichzeitig geringsten Leerwerten, lieferte. Folglich fand nur noch dieses Lösungsmittel in den folgenden Vorversuchen über pH- und Temperaturabhängigkeit und den endgültigen Messungen Verwendung.

3.2.2. Untersuchungen zur pH-Abhängigkeit der Löslichkeit

Untersuchungen wurden mit den Präparaten Enzym gallo sanol und Ozym sowie mit reiner Cholsäure durchgeführt. Zunächst wurde das Lösungsmittel L IV (Äthanol - H_2O dest.) hergestellt und der pH-Wert mit einem pH-Meter bestimmt. Er betrug 6,84.
Verschiedene Proben davon wurden dann mit 0,1 m HCl bzw. 0,1 m NaCl auf die pH-Werte 5; 6; 8 und 9 eingestellt. In jeweils 5 Proben des Lösungsmittels L IV (je 25 ml) mit den auf 5; 6; 6,84; 8 und 9 eingestellten pH-Werten wurden abgewogene Mengen der vorher pulverisierten Medikamente Enzym gallo sanol und Ozym bzw. reine Cholsäure gelöst.

Diese Ansätze konnten dann enzymatisch bestimmt werden.

3.2.2.1. Versuch mit reiner Cholsäure

Gelöst wurden jeweils 80 mg reine Cholsäure. Die 5 Ansätze wurden auf dem Magnetrührer intensiv gerührt, am darauffolgenden Tag zentrifugiert und der Überstand mit dem Enzymkit Sterognost-3α bestimmt.
Probenvolumen: 50 µl

Die Messungen ergaben bei den verschiedenen pH-Werten jeweils, abgesehen von minimalen Schwankungen, die gleichen Extinktionswerte. Die kleinen Differenzen liegen in einem Bereich, der durch Ablese-, Pipettier-, Wägefehler und dgl. zu erklären ist.

3.2.2.2. Versuch mit Enzym gallo sanol

Es wurden jeweils 1600 mg Enzym gallo sanol (pulverisiert) in den 5 Lösungsmittelansätzen gelöst und wie unter 3.2.2.1. beschrieben weiterbehandelt.
Probenvolumen: 50 µl

Auch mit Enzym gallo sanol konnten keine signifikanten Unterschiede bei den Extinktionswerten in den verschiedenen pH-Bereichen festgestellt werden. Hier ergaben sich ebenfalls nur geringe Schwankungen, die in den Fehlerbereichen der Versuchsdurchführung begründet sind.

3.2.2.3. Versuch mit Ozym

Von pulverisierten Ozymtabletten wurden jeweils 1900 mg gelöst und ebenfalls nach obigem Schema weiterbehandelt.
Probenvolumen: 50 µl

In diesem dritten Versuch wurden die Ergebnisse von den Versuchen mit reiner Cholsäure und mit Enzym gallo sanol nochmals bestätigt.

Nach den Lösungsversuchen mit reiner Cholsäure (3.2.2.1.), Enzym gallo sanol (3.2.2.2.) und Ozym (3.2.2.3.) im Lösungsmittel L IV mit verschiedenen pH-Werten läßt sich zusammenfassend sagen, daß eine Veränderung des pH-Wertes weder in den sauren noch in den basischen Bereich eine Verbesserung des Lösungsverhaltens der Gallensäuren erbringt.
Damit kann in den folgenden Versuchen auf eine Überprüfung des pH-Wertes oder eine Einstellung des Lösungsmittels auf einen bestimmten pH-Bereich verzichtet werden.

3.2.3. Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der Löslichkeit

Zu dieser Voruntersuchung wurden die beiden Medikamente Bilipeptal forte und Fermento sanol herangezogen. Nach Pulverisieren beider Präparate wurden je 3 Ansätze hergestellt. Dabei wurden 1400 mg Fermento sanol bzw. 1300 mg Bilipeptal forte jeweils in 25 ml des Lösungsmittels L IV gelöst und auf dem Magnetrührer gerührt.
Diese Ansätze wurden zunächst 3 Stunden nach ihrer Herstellung bei Raumtemperatur von 25°C ohne vorherige Inkubation bestimmt. Damit war jeweils 1 Ausgangswert vorhanden.
Während dieser Ansatz 1 weiterhin bei Raumtemperatur belassen wurde, wurde jeweils der Ansatz 2 der beiden Präparate bei 30°C und der Ansatz 3 bei 37°C (also Körpertemperatur) im Wasserbad inkubiert.
Nach 2 Stunden und nach 4 Stunden Inkubationszeit wurden von jedem der 6 Ansätze Proben entnommen und erneut mit dem Enzymkit bestimmt.

Die durch die enzymatische Bestimmung der Ansätze erhaltenen Werte und ihre Darstellung in den Schaubildern im Anhang zeigt, daß eine Erhöhung der Temperatur von Raumtempe-

ratur (25°C) auf Körpertemperatur (37°C) das Lösungsverhalten der in den Pankreasenzympräparaten enthaltenen Gallensäuren nicht signifikant verändert, da keine höheren Extinktionswerte gefunden werden.
Zudem zeigt dieser Versuch, daß die gemessenen Extinktionswerte über eine geraume Zeit hin stabil bleiben und sich also in zeitlicher Abhängigkeit ebenfalls nicht verändern, d.h. ihr Maximum bereits zum Zeitpunkt der photometrischen Bestimmung (ca. eine halbe Stunde nach Ansetzen der Proben und Leerwerte) erreicht haben.

3.3. Erstellung der Eichkurve

Die Eichkurve wurde durch Messungen von Proben reiner Cholsäure erstellt.
Die Proben wurden genauestens abgewogen; in Mengen von 10, 20, 30, 40, 50 und 60 mg. Danach wurden sie jeweils in 25 ml des Lösungsmittels L IV (Äthanol-H_2O dest. 3:1) gelöst,wobei die Wägeschalen mit je 5 ml nachgespült wurden, um die abgewogenen Cholsäuremengen möglichst vollständig, d.h. ohne Verlust, in Lösung zu bringen.
Um eine restlose Auflösung der Proben zu gewährleisten, wurden die Ansätze jeweils 15 min lang auf dem Magnetrührer intensiv gerührt. Nach dieser Zeit konnten keine ungelösten Partikel mehr festgestellt werden.
Die enzymatische Bestimmung dieser 6 Ansätze mit dem Enzymkit Sterognost-3α der Firma Nyegaard Co. erfolgte an drei aufeinanderfolgenden Tagen. An jedem dieser Tage wurden 4 Proben à 50 µl gezogen und nach der Behandlung mit dem Kit spektrophotometrisch mit dem Zeiss-Photometer gemessen.
Von diesen 12 Meßwerten pro Ansatz wurde jeweils der größte und kleinste Extinktionswert gestrichen, aus den verbleibenden 10 Meßwerten der Durchschnittswert berech-

net und somit jeweils 1 Punkt für die Eichkurve bestimmt. Diese 6 Punkte bildeten die Berechnungsgrundlage für die Eichkurve.
Meßwerte und Tabellen sowie die Berechnung und Darstellung der Eichkurve siehe Anhang.

3.4 Lösen der Medikamente für die enzymatische Bestimmung

Zum Ablösen der Dragiermasse bzw. Umhüllung der Dragées bzw. Tabletten eignete sich auf pH 9 eingestelltes Aqua bidest. Auf Filterpapier wurden die Dragée- bzw. Tablettenkerne anschließend getrocknet. Kapseln wurden mechanisch eröffnet. Nach dem Abwiegen der Präparate wurden die Tabletten, Dragéekerne, Granula bzw. das Pulver im Mörser zerrieben.
Von diesem Pulver wurden jeweils mit dem Kit zu bestimmende Mengen abgewogen. Diese wurden in je 25 ml des Lösungsmittels L IV gelöst, auf dem Magnetrührer 15 min intensiv gerührt und über Nacht stehengelassen.
Am nächsten Tag wurden die Ansätze zentrifugiert und jeweils Proben aus dem Überstand zur enzymatischen Bestimmung mit dem Kit eingesetzt.
Auf diese Weise wurden von jedem Präparat 3 Ansätze aus 3 Tabletten, Dragées oder Kapseln hergestellt und bestimmt.
Die unterschiedliche Einwaage der fein pulverisierten Medikamente folgte aus der Überlegung heraus, daß der zu erwartende Gallensäurengehalt dieser jeweiligen gelösten Mengen bei der enzymatischen Bestimmung Extinktionswerte ergeben würde, die in einem , durch die Eichgerade vorgegebenen , günstigen Meßbereich fallen würden.
In einigen Vorversuchen war diese Überlegung bestätigt worden. Damit konnte die voraussichtlich günstigste Einwaage eines jeden Medikaments vorab grob berechnet werden.

Von den Medikamenten mit Gallensäuregehalt wurden folgende Mengen gelöst:

Bilipeptal forte	600 mg
Combiase spezial	500 mg
Combizym compositum	500 mg
Enzymase	300 mg
Enzym gallo sanol	700 mg
Enzypan plus	500 mg
Femkalon	500 mg
Fermento sanol	650 mg
Festal	300 mg
Helopanzym	260 mg, 252 mg, 244 mg +)
Nutrizym Merck	500 mg
Ozym	900 mg
Pankreon compositum	280 mg
Pankreon forte	900 mg
Panpur	900 mg

+) Abweichende Gewichte der Tabletten 2 und 3, da beim Pulverisieren etwas an Substanz verloren ging.

4. Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen

4.1. Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen der Medikamente ohne Angaben über einen Gallensäurengehalt

Zunächst wurden diejenigen Medikamente, die laut Herstellerangaben keine Gallensäure enthalten, bzw. keinen Gallezusatz haben, überprüft.
Es sind folgende Präparate:

Cotazym
Fermento duodenal
Fermento duodenal für Kinder
Lipazym

Pankrease
Pankreatan
Panreatan forte
Pankreon
Pankreon Granulat
Panzynorm Pulver
Viokase Tabletten
und - mit Einschränkung - Gillazym Sandoz, das laut Hersteller Dehydrocholsäure enthält. Diese kann aber mit dem Enzymkit nicht nachgewiesen werden, da die zum enzymatischen Nachweis nötige 3-OH - Gruppe in der Dehydrocholsäure nicht vorhanden ist. An Position C-3 liegt bei der Dehydrocholsäure bereits eine Ketogruppe vor, die in dem enzymatischen Test erst durch Dehydrierung der 3-OH - Gruppe entstehen soll.

Da keine quantitativ verwertbaren Extinktionswerte zu erwarten waren, wurde bewußt auf eine genaue Einwaage verzichtet. Um ein zufällig negatives Ergebnis mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen zu können, wurden jeweils 3 Tabletten, Kapseln bzw. Dragées pro Ansatz verwendet.
Somit wurden also von jedem Medikament 3 Tabletten, Kapseln oder Dragées, im Falle von Pankreon Granulat und Panzynorm Pulver jeweils 500 mg im Mörser pulverisiert, in 25 ml des Lösungsmittels L IV gelöst, 15 min auf dem Magnetrührer intensiv gerührt und über Nacht stehengelassen. Nach Zentrifugieren wurde am nächsten Tag der Überstand enzymatisch bestimmt.
Die dabei gemessenen Extinktionswerte schwankten lediglich in ganz geringem Maße um den Nullpunkt, so daß bei all diesen Präparaten davon ausgegangen werden kann, daß sie keine oder zumindestens enzymatisch nicht nachweisbare Gallensäuren enthalten.

4.2. Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen der Medikamente mit Angaben über einen Gallensäurengehalt

Mit dem Enzymkit Sterognost-3 wurden die Präparate bestimmt, die laut Hersteller einen Zusatz an Galle bzw. Gallensäuren enthalten. Es waren dies die folgenden Medikamente:

Bilipeptal forte	Festal
Combiase spezial	Helopanzym
Combizym compositum	Nutrizym Merck
Enzymase	Ozym
Enzym gallo sanol	Pankreon compositum
Enzypan plus	Pankreon forte
Femkalon	Panpur Dragées
Fermento sanol	

Von jedem dieser Medikamente wurden 3 Tabletten bestimmt. Pro Tablettenansatz wurden 4 Proben gezogen und die Extinktionswerte gemessen.
Die Berechnung der durchschnittlichen Extinktion, der Standardabweichung und der Variationskoeffizienten erfolgte zum einen jeweils für die 4 Werte pro Tablettenansatz und zum anderen für 3 Werte je Tablette, wobei der schlechteste der 4 gemessenen Extinktionswerte gestrichen wurde.
Zudem wurden der durchschnittliche Extinktionswert, die Standardabweichung und der Variationskoeffizient für alle 12 Meßwerte der 3 Tabletten eines jeden Präparates berechnet.
Die Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen und der Berechnungen sind in den Tabellen 23 ff im Anhang zusammengestellt.

4.3. Versuch einer 2. Extraktion der Gallensäuren aus den Lösungen der Medikamente

Nach der ersten enzymatischen Bestimmung der Gallensäuren in den Ansätzen wurde versucht, in einer zweiten Bestimmung eventuell die in dem ersten Ansatz möglicherweise noch nicht gelösten Gallensäuren zu erfassen.
Dabei wurde folgendermaßen vorgegangen:
Von den zentrifugierten Ansätzen der Medikamente wurde der Überstand sorgfältig abgesaugt, ohne dabei die noch nicht gelösten Tablettenreste mitzuentfernen. Diese Überstände waren jeweils zur ersten Bestimmung eingesetzt worden.
Die zurückbleibende Masse an vorher ungelöstem Tablettenpulver wurde erneut in 25 ml des Lösungsmittels L IV (Äthanol - H_2O dest.) aufgeschwemmt, intensiv auf dem Magnetrührer gerührt und über Nacht stehengelassen. Die Ansätze wurden am nächsten Tag zentrifugiert und diese 2. Extraktion (Überstand) zur enzymatischen Bestimmung eingesetzt.
Diese zweite enzymatische Bestimmung ergab Extinktionswerte, die alle unter dem Extinktionswert lagen, der sich allein durch den Extinktionsunterschied zwischen dem Enzymkit und dem Hydrazinhydrat messen ließ. Dieser drückt sich darin aus, das die Eichgerade die y - Achse mit den Extinktionswerten bei 0,028 schneidet.
Somit sind bei Messungen von Ansätzen ohne Gallensäuren durchaus geringe Extinktionswerte zu erwarten. Erst wenn die gemessenen Extinktionswerte über diesen Wert von 0,028 deutlich hinausgehen, kann man sie als ein Zeichen in den Ansätzen gelöster und mit dem Enzymkit bestimmter Gallensäuren interpretieren.
Das bedeutet in diesem speziellen Fall, daß durch eine zweite Extraktion keine weiteren Gallensäuren bestimmt werden konnten. Es waren damit bereits im ersten Ansatz alle Gallensäuren gelöst und bestimmt worden.

4.4. Zusammenstellung der Ergebnisse

Es wurden jeweils die Durchschnittswerte aus allen 4 Meßwer-

ten (A) bzw. den drei besten Werten (B) pro Tablette gebildet und damit der Gallensäurengehalt absolut und relativ auf 100 mg Tablettensubstanz berechnet.
Daran anschließend folgt jeweils eine tabellarische Auflistung der Medikamente, geordnet nach ihrem Gallensäurengehalt. Berechnet wurde der Gallensäurengehalt nach der umgeformten Gleichung der Eichgeraden.
Die Ergebnisse wurden auf zwei Stellen hinter dem Komma gerundet.
Sie finden sich in tabellarischer und graphischer Form im Anhang.

5. Dünnschichtchromatographische Untersuchungsmethoden

5.1. Grundlagen der Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie hat heute in der Wissenschaft in allen Bereichen, in denen an der Analyse von Substanzgemischen gearbeitet wird, ihren festen Platz und ist dort nicht mehr wegzudenken.
Auch die Trennung und Analyse von Gallensäurengemischen mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie ist in zahlreichen Arbeiten der Literatur beschrieben worden (13, 14, 15, 17, 23, 24, 25, 31, 42, 45, 51, 54, 55).
Dabei wurden verschiedenste Lösungsmittel für die zu trennenden Gallensäuren und eine Vielfalt von Laufmitteln, Platten und Entwicklungsmethoden erprobt und angewendet.
Einen entscheidenden Einfluß auf Suche, Auswahl und letztendliche Entscheidung für bestimmte Lösungsmittel, Laufmittel, Platten und eine Entwicklungsmethode hat die Art der Körperflüssigkeit bzw. der Medien, aus denen die Gallensäuren extrahiert und analysiert werden sollen.
Da es sich bei dieser Arbeit um die Analyse von Pankreasenzympräparaten handelt, mußten die Versuchsbedingungen auch hier der speziellen Problematik angepaßt werden.

5.1.1. Lösungsmittel für die zu trennenden Substanzen

Das Lösungsmittel für die Gallensäuren in den Präparaten mußte für die dünnschichtchromatographische Analayse zwei grundlegende Bedingungen erfüllen.
Zum einen sollte eine möglichst gute Löslichkeit der zu untersuchenden Substanzen in diesem Lösungsmittel erreicht werden, und zum anderen ist ein Verdampfen des Lösungsmittels auf den Chromatographieplatten am Auftragepunkt bei leichter Erwärmung wünschenswert, da hierdurch der Auftragefleck relativ klein gehalten werden kann. Dies ist eine wichtige Voraussetzung für eine klare Auftrennung des Substanzgemisches mit deutlich abgrenzbaren und gut nachweisbaren

Spots ohne Schwanzbildung und Ringchromatogramme (51). Für die Analyse von Gallensäurengemischen in Arzneimittelzubereitungen sprich Pankreasenzympräparaten erwies sich Methanol zum Lösen der Medikamente als geeignet (15, 24).

5.1.1.1. Lösen der Medikamente für die dünnschichtchromatographische Analyse

Die Tabletten, Dragées oder Kapseln wurden zunächst wie unter 3.4. beschrieben von ihrer Dragiermasse bzw. Umhüllung befreit und getrocknet.
Im Mörser wurden diese getrockneten Präparate anschließend zerkleinert und zu feinstem Pulver zermahlen.
Von jedem Medikament wurden so jeweils 2 Tabletten, Dragées oder Kapseln, im Falle von Pankreon Granulat und Panzynorm Pulver jeweils 500 mg in je 25 ml Methanol gelöst.
Die Ansätze wurden auf dem Magnetrührer 15 min intensiv gerührt und über Nacht stehengelassen.
Zur Bestimmung am nächsten Tag wurden die Ansätze zentrifugiert, so daß der jeweilige Überstand für die dünnschichtchromatographische Analyse eingesetzt werden konnte.

5.1.1.2. Lösen der reinen Gallensäuren als Vergleichslösungen für die dünnschichtchromatographische Analyse der Pankreasenzympräparate

Die zum Vergleich der Laufstrecken und zur Identifizierung der Gallensäuren in den Präparaten herangezogenen reinen Gallensäuren in konjugierter und unkonjugierter Form wurden ebenfalls in Methanol gelöst.
Dazu wurden je 10 mg abgewogen und in 50 ml Methanol gelöst. Neben diesen einzelnen Ansätzen der Gallensäuren wurde je ein Gemisch der konjugierten Gallensäuren und ein Gemisch der unkonjugierten Gallensäuren hergestellt. Gelöst wurden dabei je 10 mg der einzelnen Gallensäuren bzw. ihrer Konjugate in 50 ml Methanol.

5.1.2. Laufmittel für die dünnschichtchromatographische Analyse

Als Laufmittel für die dünnschichtchromatographische Analyse der Gallensäuren in den Präparaten fanden die von Usui beschriebenen Systeme Verwendung (55).

Für die Trennung der unkonjugierten Gallensäuren:

System I: Benzol - Eisessig 80 : 20

und für die Auftrennung der konjugierten Gallensäuren:

System II: Äthylacetat - Eisessig - Methanol
70 : 10 : 20

5.1.3. Platten für die dünnschichtchromatographische Analyse

Es wurden 20 x 20 cm große Kieselgelplatten mit einer Schichtdicke von 0,25 mm für die Dünnschichtchromatographie verwendet. Diese maschinell beschichteten Platten bieten gegenüber selbst hergestellten Platten den Vorteil einer konstanten Schichtdicke und somit guter Vergleichbarkeit aufgetrennter Substanzgemische sowohl auf ein und derselben Platte als auch auf verschiedenen Platten.

5.1.4. Kammern für die dünnschichtchromatographische Analyse

Für die Trennung der Gallensäuren auf den Kieselgelplatten wurde mit den unter 5.1.2. beschriebenen Laufmitteln gesättigte Chromatographiekammern hergestellt. Dazu wurden die Glaskammern mit Filterpapier ausgekleidet, 200 ml des jeweiligen Laufmittelgemisches eingefüllt und zur Sättigung über Nacht stehengelassen (51).

5.2. Durchführung der dünnschichtchromatographischen Analyse

5.2.1. Versuchsbedingungen

5.2.1.1. Auftragen der Proben

Das Auftragen der zu trennenden Substanzgemische, also der gelösten Präparate und Gallensäuren erfolgte mit Hilfe eines Multispotters, der eine gleichmäßige Auftragemenge und -geschwindigkeit sowie eine in etwa konstante Fleckgröße am Auftragepunkt bei allen Platten garantierte. Zudem heizte der Multispotter die Plattenabschnitte vor, auf die die Lösungen aufgetragen wurden.
Die Volumina der aufgetragenen Substanzen betrugen jeweils 50 µl, die in 100 µl - Spritzen abgemessen werden konnten.
Die Auftragepunkte lagen 3 cm vom unteren Plattenrand.
Der Laufmittelspiegel in den Chromatographiekammern reichte bei den eingestellten Platten bis ca. 1 cm unter die Linie der Auftragepunkte.

5.2.1.2. Entwicklung der Platten

Zur Auftrennung der aufgetragenen Substanzen wurden die Platten in die vorbereiteten Kammern gestellt (5.1.4.).
Erreichte die Laufmittelfront eine Marke, die 2 cm vom oberen Rand der Platte entfernt war, so wurden die Platten aus den Kammern genommen und luftgetrocknet.
Dem ersten Lauf wurde ein zweiter angeschlossen, da sich hierdurch weitere Laufstrecken und damit eine bessere Auftrennung der Gallensäuren ergaben.
Die Laufzeiten betrugen jeweils pro Lauf zwischen 58 und 63 min.
Zur Aktivierung wurden die luftgetrockneten Platten nach diesen beiden Läufen in einem auf 110°C vorgeheizten Wärmeschrank 30 min. lang gelagert.

5.2.1.3. Fixierung und Entwicklung der Spots auf den Platten

Die abgekühlten Platten wurden zur Fixierung und späteren Sichtbarmachung der einzelnen Spots in ein Tauchbad aus 5%iger Schwefelsäure in Methanol gestellt und dort 2 min. belassen.
Zum Trocknen und zur Entwicklung der Spots als Farbflecke wurden die Platten nochmals für 15 min in den Wärmeschrank bei 110°C gegeben.
Nach dieser Zeit konnten die verschiedenen Gallensäuren als farbige Spots auf den weißen Kieselgelplatten ausgemacht werden. Eine genaue Beurteilung der Spots, vor allem auch derer, die bei normalem Tageslicht oder bei künstlichem Licht nicht sicher beurteilbar waren, wurde durch die Betrachtung der Platten unter einer UV-Lampe möglich.
Die Flecke wurden unter der UV-Lampe durch die Bestrahlung deutlicher sichtbar, da sie zum Fluoreszieren angeregt wurden. Damit war die Markierung und vergleichende Beurteilung der Spots gut möglich.

5.2.2. Bestimmung der Laufstrecken der Gallensäuren

Die Laufstrecke der Laufmittelfront wurde bei allen Trennungen konstant gehalten, was den Verlgeich der Platten erheblich erleichterte.
Die Laufstrecke betrug exakt 15 cm, da die Auftragepunkte 3 cm vom unteren Rand der Platte und die Markierungslinie, die die Laufmittelfront jeweils erreichen mußte, 2 cm vom oberen Plattenrand der 20 x 20 cm großen Platten entfernt lagen.
Die Laufstrecken der Gallensäuren wurden vom jeweiligen Auftragepunkt bis zum Mittelpunkt der einzelnen markierten Spots gemessen (siehe Abb. 9).

5.2.3. Bestimmung der R_f - Werte der Gallensäuren

Um die Vergleichbarkeit zu erreichen und die einzelnen Gallensäuren im Gemisch und später in den Präparaten identifizieren zu können, wurden die Laufstrecken der reinen Säuren gemessen und die R_f-Werte berechnet, was zusätzlich die Möglichkeit eines Vergleichs mit den von Usui gemessenen Werten ermöglichte (55).
Es wurden dazu jeweils die Wanderstrecken der einzelnen Gallensäuren auf 5 verschiedenen Platten gemessen; einmal als Reinsubstanz und einmal im Gemisch, so daß 10 Meßwerte pro Gallensäure vorlagen.
Aus diesen wurde der jeweilige Mittelwert der Laufstrecken errechnet. Dieser Mittelwert wiederum diente zur Berechnung des R_f-Wertes einer jeden Säure, der folgendermaßen definiert ist.

$$R_f = \frac{\text{durchschnittliche Laufstrecke der Säure (cm)}}{\text{Länge der Laufmittelfront (cm)}}$$

5.2.4. Vergleich der berechneten R_f-Werte mit den R_f-Werten von Usui

Die aus den Laufstrecken der Gallensäuren und der Laufstrecke der Laufmittelfront berechneten R_f-Werte waren zwar in ihrer Größe, d.h. in ihrem absoluten Zahlenwert nicht mit denen von Usui direkt vergleichbar, jedoch ergab die Quotientenbildung aus den R_f-Werten, die von Usui gemessen worden waren, und den R_f-Werten dieser Arbeit einen jeweils konstanten Wert (55).
Dieser betrug beispielsweise bei den unkonjugierten Gallensäuren, soweit R_f-Wert von Usui angegeben, im Mittel 1,35.

Das bedeutet, daß die Wanderstrecken der Gallensäuren zueinander in der gleichen Relation stehen, wie dies von Usui gemessen worden war. Lediglich der absolute Wert unterschied sich von dem Usuis.
Dieser Unterschied kann sich durch eine abgeänderte Versuchsanordnung, unterschiedliche Platten, andere Lösungsmittel, abweichende Raumtemperatur und Sättigung der Kammern und dergleichen mehr ergeben.

5.2.5. Identifizierung der Gallensäuren in den Präparaten

Die Bestimmung der R_f-Werte der Gallensäuren in reiner Form und ihre Identifizierung in einem Gemisch ermöglichte es, die in den verschiedenen Medikamenten vorliegenden konjugierten und/oder unkonjugierten Gallensäuren zu bestimmen.
Dazu war es lediglich notwendig, parallel zu den aufgetragenen Ansätzen der einzelnen Medikamente ein Gallensäurengemisch mit den vorher genau identifizierten und definierten Gallensäurenspots auf einer Platte laufen zu lassen.
Um nun beispielsweise in einem der Präparate Cholsäure nachweisen zu können, mußte in dem aufgetrennten Ansatz des Präparates ein Spot zu finden sein, der dieselbe Strecke gewandert war und dieselbe Farbe hatte wie die zum Vergleich mitlaufende Cholsäure.
Auf diese Art und Weise konnten alle konjugierten und unkonjugierten Gallensäuren auf ihr Vorhandensein in den Pankreasenzympräparaten überprüft werden.
Folgende Gallensäuren wurden dabei überprüft:

Cholsäure	Glyco-/Tauro- cholsäure
Desoxycholsäure	Glyco-/Tauro- desoxycholsäure
Chenodesoxycholsäure	Glyco-/Tauro- chenodesoxycholsäure
Dehydrocholsäure	Glyco-/Tauro- dehydrocholsäure
Lithocholsäure	Glyco-/Tauro- lithocholsäure

5.3. Beurteilung der Gallensäurenspots nach Qualität und Quantität

Das Ziel der Dünnschichtchromatographie war es, eine qualitative Aussage über die Zusammensetzung der Gallensäuren in den Pankreasenzympräparaten zu machen, also sozusagen ein "Gallensäurenmuster" der einzelnen Medikamente aufzustellen.
Gleichzeitig wurde versucht, eine grob quantitative Aussage hinzuzufügen, indem die Spots nach ihrer Größe und Intensität abgeschätzt und bewertet wurden.
Dazu wurde eine willkürliche Skala aufgestellt, die gekennzeichnet ist durch den Wert "o", der bedeutet, daß kein Spot gefunden werden konnte, und durch eine bestimmte Anzahl an Kreuzen (+, ++, +++ ...), die mit steigender Anzahl ein Anwachsen der Intensität und Größe der beurteilten Spots charakterisieren.
Diese zusätzliche quantitative Einschätzung sollte lediglich ein grober Anhaltspunkt sein, welche Gallensäuren in relativ großer Menge, welche nur in kleiner Menge und welche eventuell gar nicht auftreten. Sie erhebt aber keineswegs den Anspruch auf eine uneingeschränkte, absolute Richtigkeit und Vergleichbarkeit.
Eine gewisse Vergleichbarkeit der Präparate untereinander ist jedoch insofern gegeben, als sie ein bestimmtes ähnliches Gallensäurenmuster aufweisen, da sie bis auf wenige Ausnahmen eine Zubereitung aus "Fel tauri", d.h. Ochsengalle enthalten.
Nicht immer war es möglich, ganz sicher festzustellen, ob ein Spot an der zu beurteilenden Stelle vorlag, sei es durch eine sehr geringe Intensität oder durch eine Lage, die nicht ganz der entsprach, wie sie nach der zum Vergleich herangezogenen Gallensäure zu erwarten gewesen wäre.

In derartigen Fällen wurden die Kreuze in Klammern gesetzt. Bei den konjugierten Gallensäuren ergab sich die in der Literatur bereits beschriebene Schwierigkeit, die Chenodesoxycholsäure und die Desoxycholsäure, respektive ihre Konjugate eindeutig zu trennen (2, 3, 10, 13, 15, 23, 42, 45). Diese beiden Gallensäuren ließen sich zwar unterscheiden, wenn man sie einzeln als Reinsubstanzen laufen ließ, wobei sie sich dann zwar nicht eindeutig in ihrer Laufstrecke unterschieden, jedoch nach Entwicklung der Platten unterschiedliche Farbtönungen der Spots zeigten.
Im Gemisch ergaben sich jedoch keine klar und sicher zu interpretierenden Farbgemische. Die beiden Gallensäuren wurden daher zusammengenommen und gemeinsam beurteilt.
Eine weitere Schwierigkeit ergab sich bei der Beurteilung der Tauro-Dehydrocholsäure, deren kleiner dunkelblauer Spot zwischen den beiden großen und hellen Spots von Tauro-Chenodesoxycholsäure/Tauro-Desoxycholsäure einerseits und Glyco-Cholsäure andererseits liegt. Eine eindeutige Aussage ließ sich somit nicht machen, doch es liegt die Vermutung nahe, daß keine Tauro-Dehydrocholsäure vorlag, da auch weder Glyco- und Tauro-Lithocholsäure noch Glyco-Dehydrocholsäure nachzuweisen waren. Auch waren diese Gallensäuren in unkonjugierter Form nur selten nachzuweisen, und wenn dies doch möglich war, dann nur in geringer Menge oder eben manchmal nicht ganz eindeutig.
Eine gewisse Möglichkeit der Beurteilung bietet das Gallensäurenmuster eines zum Vergleich laufenden Ansatzes von reiner Ochsengalle, die in ihrer Zusammensetzung geringe Mengen an unkonjugierter Lithocholsäure und Dehydrocholsäure nachweisen ließ, jedoch diese beiden Säuren in konjugierter Form nicht zeigt.

6. Ergebnisse der dünnschichtchromatographischen Analysen

6.1. Untersuchung der Medikamente ohne Angaben über einen Gehalt an Gallensäuren

Untersucht wurden die folgenden Präparate, die laut Hersteller keinen Gallezusatz oder einen Gehalt an Gallensäuren aufweisen:

Cotazym
Fermento duodenal
Fermento duodenal für Kinder
Lipazym
Pankrease
Panreatan
Pankreatan forte
Pankreon
Pankreon Granulat
Panzynorm Pulver
Viokase Tabletten

6.1.1. Untersuchung der unkonjugierten Gallensäuren

Die Suche nach unkonjugierten Gallensäuren in den Präparaten erfolgte mit dem von Usui beschriebenen Laufmittelgemisch aus Benzol und Eisessig im Verhältnis 80 : 20 (55). Mit diesem Laufmittel konnte die Auftrennung eines zum Vergleich mitlaufenden Gemisches der reinen unkonjugierten Gallensäuren erreicht werden.
Mit der Untersuchung der Ansätze der unter 6.1. augelisteten Medikamente in diesem Laufmittel sollte die Gallefreiheit dieser Präparate, wie sie aufgrund der enzymatischen Untersuchungen in 4.1. postuliert wurde, nochmals auf dünnschichtchromatographischem Wege gezeigt und damit bestätigt werden. Dies betrifft allerdings nur die unkonjugierten Gallensäuren; die Untersuchung der konjugierten Gallensäuren folgt

unter 6.1.2..
Da bei keinem Ansatz der 11 Präparate nach dem Durchlaufen der dünnschichtchromatographischen Entwicklung gewanderte Substanzen gefunden werden konnten, die mit den Spots der zum Vergleich laufenden Gallensäuren hätten identifiziert werden können, ließ sich somit das Vorhandensein unkonjugierter Gallensäuren in diesen Medikamenten endgültig ausschließen.

6.1.2. Untersuchung der konjugierten Gallensäuren

Die unter 6.1. genannten Medikamente wurden mit dem Laufmittelgemisch Äthylacetat - Eisessig - Methanol im Verhältnis 70 : 10 : 20 nun noch auf einen möglichen Gehalt an konjugierten Gallensäuren überprüft.
Die zum Vergleich mitlaufenden Gallensäurengemische der unter 5.2.5. aufgelisteten reinen konjugierten Gallensäuren ließen sich erwartungsgemäß gut auftrennen.
Vergleichshalber wurden auch die reinen unkonjugierten Gallensäuren einmal in diesem Laufmittel mitlaufen gelassen. Sie wanderten, wie dies von Usui auch beschrieben worden war, an der Laufmittelfront (55).
Die untersuchten Ansätze der 11 Medikamente ergaben keine Substanzen, die mit den Spots der gewanderten Gallensäuren hätten verglichen werden können. Vereinzelt gewanderte Substanzen erwiesen sich als nicht genau definierbare Verunreinigungen, deren Wanderstrecken deutlich abweichend von der Gallensäure mit der geringsten Wanderstrecke minimal waren. Zudem konnten diese Substanzen rein optisch durch Fehlen der Fluoreszenz bei der Betrachtung unter der UV-lampe als Gallensäuren ausgeschlossen werden.

Damit läßt sich unter Berücksichtigung der Ergebnisse von 6.1.1. zusammenfassend sagen, daß die Medikamente, die unter 6.1. aufgelistet wurden, keine Galle bzw. Gallensäuren, weder in konjugierter noch in unkonjugierter Form enthalten.

6.2. Untersuchung der Medikamente mit Angaben über einen Gehalt an Gallensäuren

Untersucht wurden die folgenden Präparate, die laut Hersteller einen Gallezusatz oder einen Gehalt an Gallensäuren aufweisen (vgl. 2.3.):

Bilipeptal forte
Combiase spezial
Combizym compositum
Enzymase
Enzym gallo sanol
Enzypan plus
Femkalon
Fermento sanol
Festal
Gillazym Sandoz
Helopanzym
Nutrizym Merck
Ozym
Pankreon compositum
Pankreon forte
Panpur Dragées

6.2.1. Untersuchung der unkonjugierten Gallensäuren

Mit dem Laufmittelsystem I (Benzol - Eisessig 80 : 20) wurden die unter 6.2. aufgezählten Medikamente untersucht. Dabei wurden die in ihnen enthaltenen unkonjugierten Gallensäuren aufgetrennt und die Spots mit Hilfe von mitlaufenden unkonjugierten Gallensäuren in reiner Form verglichen und identifiziert.
Damit konnte das Gallensäuremuster der unkonjugierten Gallensäuren für jedes Präparat nach der unter 5.3. beschriebenen Methode aufgestellt werden. Der besseren Übersicht und Vergleichbarkeit halber sind die Ergebnisse in Tabelle 46 zusammengestellt.

6.2.2. Untersuchung der konjugierten Gallensäuren

Zur Auftrennung der in den Präparaten enthaltenen konjugierten Gallensäuren fand das Lösungsmittelsystem II Verwendung (Äthylacetat - Eisessig - Methanol 70 : 10 : 20). Auch hier ermöglichten die zum Vergleich mitlaufenden Reinsubstanzen der verschiedenen konjugierten Gallensäuren, die unter 5.2.5. aufgelistet sind, eine Identifizierung der Spots auf den Platten.
Wie bei der Untersuchung der unkonjugierten Gallensäuren schon gesehen, wurde auch hier für jedes Medikament das Gallensäurenmuster der konjugierten Gallensäuren, sowohl der Tauro-Konjugate als auch der Glyco-Konjugate aufgestellt. Einen Überblick und eine Vergleichsmöglichkeit bieten die Tabellen 47 und 48, in denen die Ergebnisse zusammenstellt sind.

6.3. Zusammenstellung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der dünnschichtchromatographischen Analyse der Pankreasenzympräparate mit einem Zusatz von Galle oder Gallensäuren wurde zur besseren Übersicht und Vergleichbarkeit in den Tabellen 43 bis 48 zusammengestellt (siehe Anhang).
In den Tabellen 43, 44 und 45 finden sich die Meßwerte der Wanderstrecken der unkonjugierten und konjugierten Gallensäuren in reiner Form, sowie die daraus berechneten R_f-Werte. Zusätzlich wurde ein Vergleich mit den R_f-Werten von Usui angestellt (55).
Die Tabellen 46, 47 und 48 geben schließlich eine Übersicht der untersuchten Medikamente wieder, mit dem Gallensäurenmuster der unkonjugierten Gallensäuren (Tab. 46) und der konjugierten Gallensäuren (Tab. 47 und 48).
Gleichzeitig beinhalten die Tabellen 46, 47 und 48 eine grobe Einschätzung der Quantität der gefundenen Gallensäuren. Zum Vergleich wurde dabei zusätzlich reine Ochsengalle hinzugezogen.

7. Diskussion

Seit Jahrzehnten schon wird die Pankreasinsuffizienz mit Pankreasenzympräparaten behandelt, die vor allem deutsche und amerikanische Firmen auf den Markt bringen.
Diese Medikamente enthalten im allgemeinen die gleichen Wirkstoffgruppen und -kombinationen, und nur deren Gewichtung ist von Präparat zu Präparat Schwankungen unterworfen.
Nicht zuletzt aufgrund der breiten Palette an Pankreasenzympräparaten, die intensiv angepriesen werden und die sich ständig verbessert vorstellen, waren diese Medikamente immer wieder Gegenstand eingehender Untersuchungen und Arbeiten mit dem Ziel, die besten Präparate hinsichtlich ihres Enzymgehaltes herauszufinden.
Die neueste Untersuchung, die dieser Frage nachgeht, führte Molitor im gleichen Hause durch, in dem die vorliegende Arbeit erstellt wurde (35).
Neben den wichtigsten Bestandteilen der Präparate, den Enzymen wie Lipase, Amylase und Proteasen findet sich bei annähernd 60 % der Medikamente ein Zusatz an Galle.
Erweiternd und anlehnend an die Arbeit von Molitor sowie an eine Untersuchung von Wolf über den Puringehalt derselben Präparate soll in dieser Arbeit eine quantitaive Bestimmung der Gallensäuren in diesen Medikamenten erfolgen (58).
Bei den Zusätzen handelt es sich bis auf wenige Ausnahmen um Fel Tauri (Ochsengalle), selten nur um Fel Suis (Schweinegalle), und nur ein Präparate (Gillazym Sandoz) enthält einen Zusatz einer einzigen Gallensäure (Dehydrocholsäure).
Auffällig ist, daß bei 2 Präparaten vom Hersteller lediglich von einem Zusatz an Galle gesprochen wird, jedoch offen gelassen wird, um welche Art von Galle es sich handelt (Enzymase und Enzypan plus). Das durch die dünnschichtchromatographische Untersuchung ermittelte Gallensäurenmuster der Medikamente ermöglichte eine Zuordnung der Präparate zu einer der beiden Gruppen (Enzymase - Fel suis, Enzypan plus - Fel tauri).

Ergänzt wurde die quantitative Untersuchung durch eine dünnschichtchromatographische Analyse der Präparate, die eine Auftrennung der Gallensäurengemische bezweckte, um damit für jedes Präparat ein Gallensäurenmuster aufstellen zu können.
Die quantitative Bestimmung der Gallensäuren wurde auf enzymatischem Wege durchgeführt. Dabei überführt die 3α-Hydroxysteroid Dehydrogenase Steroide der C 19, C 21 und C 24 - Reihe einschließlich der Glycin- und Taurinkonjugate in ihre korrespondierenden Ketoformen. Die Bildung von NADH aus NAD^+, die gleichzeitig abläuft, läßt sich photometrisch messen und bildet somit die Grundlage der enzymatischen Bestimmung (9, 10, 24, 33, 39, 53).
Zwar wurde in der Literatur über die Anwendung des Enzymkits bereits mehrfach berichtet, jedoch erfolgten diese quantitativen Bestimmungen der Gallensäuren in anderen Medien wie Faeces, Blut, Serum oder Duodenalaspirat (9, 10,31, 33, 39, 53).
Die besondere Situation , die sich mit der hier anstehenden Aufgabe stellte, die Gallensäuren in Pankreasenzympräparaten zu bestimmen, erforderte eine Reihe von Vorversuchen.
Schon bei der Frage nach der Aufarbeitung der Präparate ist man in der Literatur durchaus unterschiedlicher Ansicht (7, 10, 11, 33, 59). Zwar ist ein Entfernen der Dragiermasse bzw. der Kapseln unschwer durchzuführen, ein geeignetes Lösungsmittel, das allen Anforderungen gerecht wird, konnte bisher dagegen nicht gefunden werden.
Somit war ein erster orientierender Vorversuch notwendig, bei dem sich das Lösungsmittelgemisch Äthanol - H_2O dest. im Verhältnis 3:1 als besonders geeignet für die enzymatische Bestimmung herausstellte.
Es folgten Untersuchungen, die der Frage nachgingen, ob die Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen von den Reaktionsbedingungen wie dem pH - Wert oder der Temperatur abhängig sind.
Die Änderung beider Parameter ergab keine signifikanten Veränderungen, also z.B. keine Steigerung der Extinktionswerte.

Gleichzeitig zeigten diese Vorversuche, daß nach einer halben Stunde die gemessenen Extinktionswerte ihr Maximum erreicht haben und sich über längere Zeit nicht verändern. Damit waren die Bedingungen für die enzymatischen Bestimmungen festgelegt.

Aus den gemessenen Extinktionswerten läßt sich mit Hilfe einer vom Hersteller des Enzymkits angegebenen Formel der Gallensäurengehalt der gemessenen Proben berechnen. Dieses Vorgehen ist jedoch mit Fehlerquellen verbunden und wurde daher verworfen. Statt dessen wurde unter den gleichen Versuchsbedingungen eine Eichkurve mit reiner Cholsäure aufgestellt, deren Gleichung berechnet wurde, womit die Grundlage für eine exakte Berechnung des Gallensäurengehalts der Pankreasenzympräparate aus den gemessenen Extinktionswerten gegeben war.

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte in einigen Tabellen und Abbildungen, die einen orientierenden Überblick und eine bessere Anschaulichkeit vermitteln sollen.

Die daran anschließende Auftrennung der Gallensäuren mittels Dünnschichtchromatographie erfolgte in 2 Läufen auf Kieselgelplatten in aufsteigender Entwicklung. Dabei erwiesen sich für die Trennung der unkonjugierten Gallensäuren das Laufmittelgemisch Benzol - Eisessig (80 : 20) und für die Trennung der konjugierten Gallensäuren das Laufmittelgemisch Äthylacetat - Eisessig - Methanol (70 : 10 : 20) nach Usui als geeignet (55).

Um das Entstehen von Ringchromatogrammen und Schwanzbildungen zu vermeiden, mußten die Präparate im Gegensatz zur enzymatischen Bestimmung in einem leicht flüchtigen Lösungsmittel gelöst werden. Hier erfüllte Methanol die Anforderungen in zufriedenstellender Weise.

Die Identifizierung der aufgetrennten Gallensäuren wurde erreicht durch das gleichzeitige Mitlaufenlassen reiner Gallensäuren.

Die in einem Säurebad entwickelten und fixierten Spots konnten unter der UV-Lampe deutlich sichtbar gemacht werden. Neben der Markierung und Identifizierung der Spots erfolgte eine grob quantitative Einschätzung von deren Größe und damit der Menge der vorhandenen Gallensäuren.
Gemessen wurden die Laufstrecken der einzelnen Gallensäuren; daraus ließ sich der jeweilige R_f-Wert berechnen.
Auch hier erfolgte eine Darstellung der Ergebnisse in Tabellen und Abbildungen zur besseren Übersicht und zur einfacheren Möglichkeit des Vergleichs.
Zur Sicherung der durch enzymatische Bestimmungen gewonnenen Ergebnisse über die "Gallefreiheit" der Präparate wurden die so vom Hersteller deklarierten Präparate zusätzlich dünnschichtchromatographisch überprüft. Wie durch die enzymatischen Bestimmungen konnten auch dadurch keine Gallensäuren in den Medikamenten nachgewiesen werden.
Es waren dies die Präparate : Cotazym Kapseln, Fermento duodenal, Fermento duodenal für Kinder, Lipazym, Pankrease, Pankreatan, Pankreatan forte, Pankreon Tabletten, Pankreon Granulat, Panzynorm Pulver und Viokase Tabletten).
Bei all diesen Präparaten konnten somit die Herstellerangaben bestätigt werden.
Beim Präparat Gillazym Sandoz galt es zu überprüfen, ob tatsächlich, wie vom Hersteller postuliert, die Dehydrocholsäure, und nur diese dem Medikament zugesetzt ist.
Die enzymatische Bestimmung ergab, wie zu erwarten war, keine verwertbaren Extinktionswerte, die auf irgend eine Gallensäure mit 3α -OH-Gruppe hingewiesen hätten, da die Dehydrocholsäure in 3α-Stellung bereits in Ketoform vorliegt und somit mit den Reagenzien des Enzymkits nicht bestimmt werden kann.
Die dünnschichtchromatographische Analyse zeigte in der Untersuchung auf unkonjugierte und konjugierte Gallensäuren nur den nach den Herstellerangaben zu erwartenden großen Spot der Dehydrocholsäure in unkonjugierter Form.
Die Angeben waren also auch bei diesem Medikament richtig.

Die Ergebnisse, die die enzymatische Bestimmung der Präparate mit einem Zusatz an Galle erbrachte, werden im folgenden zunächst als absolute Werte beurteilt und verglichen.
Mit diesen Zahlen ist ein Vergleich der Präparate hinsichtlich ihres absoluten Gehalts an Gallensäuren möglich.
Da dieser Vergleich jedoch keine Rücksicht auf das Gewicht der verschiedenen Dragées, Kapseln oder Tabletten nimmt, wurde zum zweiten eine Relativierung der absoluten Werte vorgenommen, indem der Gallensäurengehalt eines jeden Medikaments auf eine Tabletteneinwaage von 100 mg berechnet wurde.
Man bedenke dabei, daß die Tablettengewichte von 267,9 mg (Pankreon Tabletten) bis zu 980,5 mg (Panpur Daragées) schwanken, und auch der Gallezusatz zwischen 25 mg Fel tauri sicc. (Festal) und 75 mg Fel tauri sicc. (Pankreon forte) schwankt.

Als Präparat mit dem absolut höchsten Gehalt an Gallensäuren stellte sich Pankreon forte heraus (43,93 mg/Tbl.), das zusammen mit Bilipeptal forte (40,36 mg/Tbl.) und Enzym gallo sanol (39,01 mg/Tbl.) deutlich die Spitzengruppe unter den 27 untersuchten Präparaten bildet.
Als Bindeglied zwischen dieser Spitzengruppe und einem folgenden breiten Mittelfeld an Medikamenten mit einem Gallensäurengehalt von 33,27 mg bis 27,64 mg pro Tablette ist Femkalon mit 36,23 mg/Tbl. auf dem 4. Platz einzuordnen. Dieses Mittelfeld wird angeführt von dem Präparat Combizym compositum, welches auf Rang 5 einen Gallensäurengehalt von 33,27 mg/Tbl. aufweist. Es folgt auf Platz 6 Pankreon compositum mit 32,10 mg/Tbl., an 7. Stelle steht Fermento sanol (31,95 mg/Tbl.), und Enzypan plus weist auf dem 8. Rang als letztes Präparat noch einen Gallensäurengehalt über 30 mg/Tbl. auf (30,35 mg/Tbl.).
Mit 28,72 und 27,64 mg/Tbl. sind Panpur Dragées bzw. Helopanzym noch zum Mittelfeld zu rechnen (Rang 9 bzw. 10).

Die Gruppe der 5 Medikamente mit den geringsten Zusätzen an Gallensäuren wird gebildet von den Präparaten Enzymase, Ozym, Nutrizym Merck, Festal und Combiase spezial in eben dieser Reihenfolge (Platz 11 bis 15). Dabei fallen in dieser Schlußgruppe noch einmal die beiden letztgenannten Präparate deutlich ab. Festal mit 16,12 mg/Tbl. und Combiase spezial mit nur 11,73 mg/Tbl. liegen in der Reihenfolge noch hinter den über 20 mg/Tbl. enthaltenden Präparaten Enzymase (Rang 11; 23,75 mg/Tbl.), Ozym (22,86 mg/Tbl.; an 12. Stelle) und Nutrizym Merck (13. mit 20,75 mg/Tbl.). Insgesamt gesehen ergab sich damit eine Streubreite der Werte von 11,73 mg/Tbl. bis zu 43,93 mg/Tbl..
Das Präparat Pankreon forte enthält somit pro Tablette nahezu 4-mal soviel Gallensäuren wie das Präparat Combiase spezial.

Einige Veränderungen ergaben sich allerdings bei einer anderen Darstellungsweise der Ergebnisse. Unter Einbeziehung der teilweise stark differierenden Tablettengewichte wurde der relative Gallensäurengehalt der Medikamente berechnet (Gallensäurengehalt pro 100 mg Tabletteneinwaage).
Dabei ergab sich für die Präparate mit kleinem Tablettengewicht meist ein vergleichsweise günstigerer Wert, so daß es beispielsweise nicht verwundern darf, wenn das Präparat Pankreon forte seine Spitzenposition, gemessen am absoluten Gallensäurengehalt, aufgrund seines hohen Tablettengewichtes (951,00 mg) verliert und bei dieser Betrachtungsweise der Ergebnisse gar bis ins untere Mittelfeld abrutschte. Im Gegensatz dazu rückte Helopanzym (284,50 mg Tablettengewicht) vom 10. Rang im unteren Mittelfeld nun auf den 2. Platz vor.
Im Einzelnen ergaben sich folgende Werte: den deutlich höchsten Gallensäurengehalt haben die Präparate Pankreon compositum mit 10,54 mg/100 mg Tbl.-Gew. (vorher Rang 6) und Helopanzym 9,72 mg/100 mg TG (war an 11. Stelle) und der 4. Platz blieb wiederum für Femkalon (6,60 mg/100 mg TG). Der Gallensäurengehalt von Bilipeptal forte beträgt 5,96 mg/100 mg TG (Rang 5, vorher an 2. Stelle). Es folgen Enzypan plus mit 5,74 mg/100 mg TG, Combizym compositum mit 5,68 mg/100 mg TG und Enzym gallo sanol mit 5,26 mg/100 mg TG an 6., 7. und 8. Stelle.

Als 9. Medikament weist Festal schon einen Gehalt unter 5 mg/100 mg TG auf (4,80 mg/100 mg TG). Dahinter rangieren Fermento sanol mit 4,64 mg/100 mg TG auf dem 10. Platz, Pankreon forte an 11. Stelle (4,62 mg/100 mg TG) und Nutrizym Merck auf Rang 12 mit 3,75 mg/100 mg TG.
Drei Präparate runden das 15-er Feld nach unten ab: Panpur Dragées mit 2,93 mg/100 mg TG auf Platz 13, Ozym als 14. mit 2,46 mg/100 mg TG, und Combiase spezial belegt mit 2,14 mg/100 mg TG wiederum den 15. und letzten Rang.
Die Ergebnisse der Bestimmung des relativen Gallensäurengehaltes der Präparate reichen also von 2,14 mg Gallensäuren pro 100 mg Tabletteneinwaage bis zu 10,54 mg Gallensäuren/100 mg TG. Hier enthält das führende Präparat Pankreon compositum demnach pro 100 mg Tabletteneinwaage etwa das 5-fache an Gallensäuren wie Combiase spezial, das Präparat mit dem gerirgsten Gallensäurengehalt.

Diesen quantitativen Bestimmungen folgte eine qualitative Untersuchung der Präparate. Dabei wurde auf dünnschichtchromatographischem Wege eine Auftrennung der Gallensäuren erreicht. Überprüft wurden die Medikamente auf den Gehalt an folgenden Gallensäuren: Cholsäure, Desoxycholsäure , Chenodesoxycholsäure, Dehydrocholsäure und Lithocholsäure sowie deren Glyco- und Taurokonjugate.
Wie in der Literatur mehrfach berichtet, ergab sich auch hier die Schwierigkeit, die Konjugate der Desoxycholsäure und der Chenodesoxycholsäure zu trennen, so daß diese gemeinsam bewertet werden mußten (2, 3, 10, 13, 15, 23 42, 45).
Zunächst die Präparate, denen Schweinegalle zugesetzt wurde: Aus der Reihe der 4 Präparate fällt Bilipeptal forte insofern heraus, als das Gallensäuremuster dieses Medikaments lediglich unkonjugierte Gallensäuren umfaßt. Gefunden wurden Cholsäure und Chnodesoxycholsäure; hinsichtlich des Gehalts an Desoxycholsäure, Dehydrocholsäure und Lithocholsäure waren eindeutige Aussagen nicht zu machen. Konjugierte Gallensäuren enthielt Bilipeptal forte nicht. Dies könnte auf einen Zusatz einer ge-

reinigten Galle hinweisen, die nur noch diese Gallensäuren enthält.
Bei den Präparaten Enzymase, Helopanzym und Ozym konnten als unkonjugierte Säuren jeweils Cholsäure, Desoxycholsäure und Chenodesoxycholsäure sicher nachgewiesen werden. Fraglich war, ob Enzymase eine Spur an Dehydrocholsäure und Helopanzym geringe Mengen an Lithocholsäure enthalten. Ansonsten konnten diese beiden Säuren bei keinem der 3 Medikamente nachgewiesen werden.
Als konjugierte Säuren lagen bei den 3 genannten Präparaten Cholsäure, Desoxycholsäure und Chenodesoxycholsäure sowohl in Glyco- als auch in Tauroform vor. Nicht sicher zu entscheiden war die Frage, ob ein geringer Teil an Glycodehydrocholsäure in diesen Präparaten enthalten war.
Der Unterschied zu den Medikamenten mit einem Zusatz an Ochsengalle lag darin, daß sich in den Schweinegallepräparaten bei den konjugierten Gallensäuren mehr Desoxycholsäure und Chenodesoxycholsäure als Cholsäure nachweisen ließen. Die Ochsengallepräparate zeigten dagegen durchweg einen größeren Cholsäuregehalt.
Dieser Cholsäuregehalt war bei den Medikamenten mit einem Zusatz an Ochsengalle sowohl bei den unkonjugierten als auch bei den konjugierten Gallensäuren am größten.
Im großen und ganzen zeigten auch die 11 Ochsengallepräparate bis auf kleine Mengenunterschiede dasselbe Gallensäuremuster. So ließen sich sowohl Cholsäure, Desoxycholsäure und Chenodesoxycholsäure als auch die unkonjugierten Säuren als Glyco- oder Taurokonjugate nachweisen, wobei eben die Cholsäure den größten Anteil ausmachte.
Bei der Auftrennung der unkonjugierten Gallensäuren konnten die Spots bei einigen Präparaten nicht sicher als Dehydrocholsäure bzw. als Lithocholsäure identifiziert werden. Da also keine eindeutigen Aussagen zu treffen waren, wurden diese fraglichen Spots in der Tabelle 46 durch eine Klammer gekennzeichnet.

Die Dehydrocholsäure und die Lithocholsäure konnten beide weder als Glycokonjugat noch als Taurokonjugat in allen 11 Präparaten mit einem Zusatz an Ochsengalle nachgewiesen werden.

Interessant ist die Frage, unter welchem Gesichtspunkt den Enzympräparaten von den Herstellern Gallensäuren zugesetzt und damit gerechtfertigt werden.
Dazu wurden die Angaben der Hersteller über Indikationen und Kontraindikationen der Präparate unter dem speziellen Gesichtspunkt des Gallensäurenzusatzes überprüft.
Beinahe durchweg bei allen Medikamenten wurde der Zusatz von Galle durch folgenden Effekt gerechtfertigt:
"Anregung der Leberzellen zur körpereigenen Galleproduktion (Choleresef̈orderung), Beteiligung an der Fettverdauung und Rhythmisierung der Darmbewegung durch ausreichende Stuhlanfeuchtung u.ä.".
Indikationen ergeben sich daraus laut Hersteller für:
"Verdauungsstörungen im Zusammenhang mit eingeschränktem Galleabfluß,z.B. chronischem Leberschaden (Hepatopathie), Gallenblasenleiden mit Steinbildung (Cholezystopathie, Cholelithiasis), Zustand nach Gallenblasenoperationen (Postcholezystektomiesyndrom) usw.".
Bezüglich der Frage nach den Wirkungen und Indikationen sind sich die Hersteller der Präparate offenbar einig. Die oben exemplarisch angeführten Wirkungen und Indikationen fanden sich sinngemäß auf den Packungsbeilagen bei allen untersuchten Medikamenten beschrieben.
Seltsamerweise scheinen die Hersteller jedoch zu keiner gemeinsamen Vorstellung über die Kontraindikationen bei der Anwendung ihrer Präparate gekommen zu sein. Im allgemeinen wurden zwar häufig Anwendungseinschränkungen bzw. Kontraindikationen genannt wie:
"gestörte Leberfunktion und Nierenfunktion, starke Leberfunktionsstörungen mit hohen Bilirubinwerten, Gallengangsverschlüsse, Gallenblasenempyem und (Früh-)Schwangerschaft", jedoch behaupten

verschiedene Hersteller, daß selbst bei schweren und chronischen Krankheitsfällen und damit verbundener Dauermedikation keine Schäden zu befürchten sind (Enzymase), bwz. keine Unverträglichkeiten und Risiken bekannt sind (Ozym, Panpur Dragées), und auf der Packungsbeilage von Enzypan plus findet sich der Punkt Nebenwirkungen bzw. Kontraindikationen erst gar nicht.
Erstaunlicherweise wird bei dem Präparat Enzymase die Indikation zur Einnahme mit "akute und chronische Leberschäden, Cholezystitis u.a." gestellt, bei Erkrankungen also, die von anderen Herstellern teilweise als Kontraindikationen angeführt werden.
Ebenso wird bei dem Medikament Enzypan plus der Indikationsbereich einfach mit "Hepato- und Cholezystopathien" umschrieben, was ebenfalls keine exakte Abgrenzung zu den genannten Kontraindikationen bei den anderen Präparaten wie "Leberschäden, Gallenblasenempyem o.ä." zuläßt. Der Hersteller von Enzypan plus gibt allerdings, wie erwähnt, auch keine Unverträglichkeiten und Kontraindikationen an.
Zusammenfassend läßt sich somit sagen,daß von allen Herstellern übereinstimmend die Wirkungen der Pankreasenzympräparate mit einem Zusatz an Gallensäuren mit der Formulierung:
"Förderung des körpereigenen Galleflusses und der Fettverdauung, sowie Regulierung der Darmtätigkeit"
charakterisiert werden, wenngleich hinsichtlich der Frage nach Unverträglichkeiten, Risiken und Kontraindikationen von einem Konsens der Hersteller nicht die Rede sein kann.

In der Literatur lassen sich hingegen noch mannigfaltige andere Wirkungen und auch Nebenwirkungen von Gallensäuren finden, die sich offensichtlich vor allem bei einer Langzeittherapie mit Gallensäuren äußern können.

Unumstritten sind die verschiedenen verdauungsfördernden Effekte der Gallensäuren, die hinreichend bekannt sind. Gallensäuren

spielen eine wichtige Rolle bei der Fettverdauung; sie bilden Mizellen mit den Spaltprodukten und erleichtern dadurch die Fettresorption und nicht zuletzt auch die Resorption von fettlöslichen Vitaminen, z.B. Vitamin D (8, 12, 18, 48). Ein Mangel an Gallensäuren führt daher oftmals zu ausgeprägten Steatorrhoen.
Außerdem kann ein Mangel an Gallensäuren auch zu Cholelithiasis führen, da sich bei Überschreiten eines kritischen Wertes für das Löslichkeitsprodukt des Cholesterins in der Gallenflüssigkeit Gallensteine aus Cholesterin bilden können (48, 49).
Desweiteren spielen die Gallensäuren eine wichtige Rolle bei der Entgiftung bakterieller Endotoxine (1).
Doch ebenso wie ein zuwenig an Gallensäuren die Stuhlbeschaffenheit und Stuhlfrequenz im negativen Sinne beeinflussen kann, können sich funktionelle Störungen der Darmmotorik durch einen gesteigerten Gallensäurengehalt einstellen.
So werden beispielsweise chologene Diarrhoen bei Erkrankungen des Darmes beobachtet, die einen vermehrten Übertritt von Gallensäuren in den Dickdarm zur Folge haben (Morbus Crohn, größere Dünndarmresektionen u.ä.).
Der Mechanismus erklärt sich dadurch, daß die vermehrt ins Colon übergetretenen Gallensäuren auf den Wasser- und Elektrolyttransport in der Colonschleimhaut in dem Sinne Einfluß nehmen, als sie zu einer verminderten Reabsorption von Wasser und gleichzeitigen Wasser- und Natriumsekretion ins Darmlumen führen (8, 12, 48, 49).
Aber nicht nur bei Erkrankungen des Dünndarms kann es zu chologenen Diarrhoen kommen, auch bei oraler Gallensäurentherapie mit konsekutivem Anstieg des Gallensäuregehalts im Colon sind Diarrhoen oftmals die Folge. Häufig wird dies bei der medikamentösen Lyse von Gallensteinen beobachtet (16, 21, 48, 49).
Die forcierte Wassersekretion beruht auf der Tatsache, daß einige Gallensäuren (v.a. die Dihydroxy-Gallensäuren) die Aktivität der Andenylat-Zyklase in der Colonschleimhaut steigern. Das vermehrt

gebildete zyklische Adenosinmonophosphat (Zyklo-AMP) regt dann die Natrium- und Wasserabgabe in das Darmlumen an (4, 49, 60). Aber nicht nur die Elektrolyt- und Wasserabsorption im Colon, sondern auch im proximalen Jejunum und terminalen Ileum wird von Gallensäuren beeinflußt, wie dies Konder beispielsweise bei seinen Perfusionsversuchen mit unkonjugierter Cholsäure und Desoxycholsäure an der Ratte zeigt (29, 30).

Weiter noch gehen die Ergebnisse von Chadwick, der anhand der Absorptionsraten verschiedener Polyäthylen-Glycol-Moleküle mit kleinem Molekulargewicht den Einfluß von Chenodesoxycholsäure auf die Permeabilität der Colonmukosa untersuchte (6).

Chadwick fand eine allgemeine Absoprtionssteigerung für alle Moleküle während der Perfusion mit Chenodesoxycholsäure, was einen Anstieg der Permeabilität der Colonmukosa anzeigt. Er untersuchte daraufhin neun verschiedene Gallensäuren auf ihre Wirkung im Hasencolon und fand nur bei den Di-alpha-Hydroxy-Gallensäuren eine Steigerung der Permeabilität der Colonmukosa. Verbunden war diese Permeabilitätssteigerung mit einer Schädigung der Mukosa, die sich licht- und elektronenmikroskopisch nachweisen und durch einen DNA-Verlust aus der Mukosa in die Perfusionsflüssigkeit erklären ließ (6).

Wie oben schon erwähnt, wurde verschiedentlich schon von Erfolgen bei der medikamentösen Gallensteinauflösung mit Gallensäuren berichtet (16, 21, 22, 48). Erfolgsaussichten bestehen jedoch lediglich bei ausschließlich oder ganz überwiegend aus Cholesterin bestehenden Steinen, die nicht größer als 10 mm im Durchmesser sind. Eine Cholelitholyse kann zum Beispiel mit Chenodesoxycholsäure erreicht werden, während Cholsäure unwirksam ist (16). Voraussetzung dafür ist jedoch eine Behandlungsdauer von 6 bis 24 Monaten, wobei zusätzlich eine Rezidivprophylaxe erforderlich ist.

Dabei kommt es nicht selten zu unerwünschten Nebenwirkungen, die von Diarrhoen über leichte Leberfunktionsstörungen mit passagerem Anstieg der Transaminasen bis zur Anorexie reichen (16, 21, 22, 48).

Selbst röntgenologisch konnten bei der Cholelitholysetherapie mit Chenodesoxycholsäure Veränderungen gesehen werden, die nicht nur auf das Colon beschränkt waren. Bisher wurden die bei der Therapie auftretenden Diarrhoen vor allem einer vermehrten Wassersekretion im Colon zugeschrieben. Möckel fand jedoch auch deutliche Veränderungen im Dünndarm, wie z.B. wulstig verschwollene Kerckring'sche Falten, umschriebene Wandödeme mit Einengung des Lumens, Tonusanomalien oder eine deutlich verkürzte Passagezeit (34).

Neben dieser unerwünschten Wirkung der Gallensäuren auf das Colon und den Dünndarm wurde auch über eine mögliche Kanzerogenität der Gallensäuren für das Colon diskutiert und entsprechende Versuche unternommen (38, 40, 48, 60).

Dabei stellten sich nicht die Gallensäuren als die eigentlichen Kanzerogene heraus, sondern es zeigte sich, daß sie vielmehr als Kokarzinogene die tumorinduzierende Wirkung von bestimmten Stoffen, wie z.B. MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-Nitrosoguanidin) verstärken und zu einem Anstieg der Tumorraten im Tierversuch führen.

Man hat dabei festgestellt, daß bei Ratten, die mit MNNG und Gallensäuren behandelt worden waren, die Tumorrate signifikant höher war, als bei Tieren derselben Rasse, die lediglich das Karzinogen MNNG ohne Gallensäuren verabreicht bekommen hatten. Gallensäuren alleine führten jedoch zu keinem signifikanten Anstieg bösartiger Neubildungen im Vergleich zu völlig unbehandelten Ratten (40).

Eine andere Theorie zur Kanzerogenität der Gallensäuren besagt, daß bakterielle Enzyme in vitro Gallensäuren in das Karzinogen Methylcholanthren umzubauen vermögen, somit die Gallensäuren also als Prokarzinogene wirken können (60).

Desweiteren wurde die Behauptung aufgestellt, daß die Tumorrate des Colon mit einer erhöhten Gallensäurenkonzentration in den Faeces korreliert (20). Dies konnte von Mudd nicht bestätig werden (38). Andrerseits schließt Mudd die Möglichkeit nicht aus, daß Gallensäuren die Tumorinduktion im menschlichen Colon beeinflussen, sei es durch die Wirkung als Substrat für die Bildung von karzinogenen Substanzen oder als Hilfsmittel für die mizelläre Löslichkeit nicht-polarer Moleküle. Jdenfalls bezweifelt Mudd, daß eine einfache Korrelation zwischen dem Risiko der Entwicklung maligner Prozesse im Colon und der Gallensäurenkonzentration im Stuhl herzustellen ist.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch eine Studie von Moskowitz 1978 (36). Außerdem bezweifelt auch Mower im Sinne von Mudd die Theorie der direkten Korrelation zwischen Karzinomrate und der Gallensäurenkonzentration in den Faeces (37).
Zu dieser Frage existieren offensichtlich mehrere Theorien, die teilweise belegt, andererseits jedoch angezweifelt und widerlegt wurden.
Eines kann also gesagt werden: Es wird übereinstimmend darüber diskutiert, daß Gallensäuren an der Karzinogenese des Colon-Ca beteiligt sind, der Mechanismus allerdings noch unklar ist (32).
In diesem Zusammenhang ist interessant zu wissen, daß Watanabe im Gegensatz zu den Ergebnissen einer positiven Korrelation zwischen Gallensäurenkonzentration in den Faeces und der Tumorrate im Colon bei der Induktion von Hauttumoren bei Mäusen mit Benzpyren einen hemmenden Effekt der Gallensäuren auf Tumorentstehung und Tumorwachstum fand (57).
Hier senken die gleichzeitig mit Benzpyren applizierten Gallensäuren die Tumorrate signifikant.
Dies zeigt einmal mehr, daß man mit allgemeinen Folgerungen aufgrund einer Untersuchung an einem Zielorgan falsche Schlüsse bezogen auf andere Organe ziehen kann. Es scheint daher, was die Beurteilung der Nebenwirkungen von Gallensäuren angeht, eine gewisse Vorsicht am Platze zu sein.
Nichtsdestoweniger werden die Gallensäuren auch als pathogenetischer Faktor bei der Entstehung von Gastritis, Ösophagitis und Ulcera diskutiert (46, 49, 60).
Ausgelöst werden diese Krankheiten durch einen duodenogastralen Reflux von Gallensäuren (5, 19).
Bei einem Gallereflux in den Pankreasgang können Pankreatiden ausgelöst werden.
Osnes zeigt, daß die Gallensäuren die aktiven Substanzen der Galle sind, die bei bestimmten Konzentrationen das exokrine Pankreas stimulieren und zu einer Sekretion von Wasser und Bicarbonat führen, also in der Regulation des exokrinen Pankreas möglicherweise eine entscheidende Rolle spielen (43).

Der Mechanismus ist bisher nicht aufgeklärt worden; eventuell kommt hierbei dem Sekretin eine wichtige Rolle zu. Auf der anderen Seite erhöhen die Gallensäuren die Permeabilität der Pankreasgänge und müssen daher als ein möglicher ätiologischer Faktor in der Pathogenese entzündlicher und bösartiger Erkrankungen des Pankreas angesehen werden (46).
Außerdem können Gallensäuren bei einem Reflux als "Zerstörer von Barrieren" dienen und so zu einer vermehrten Aufnahme von karzinogenen Stoffen führen, wie dies Starlinger anhand eines Versuches mit MNNG und Taurocholat nachgewiesen hat (52). Galliger Reflux kann demnach die Entstehung von Magentumoren begünstigen.
In einer weiteren Studie zeigte Wallace an Kaninchenmukosa, daß das Taurokonjugat der Dihydroxy-Gallensäure Deoxycholsäure eine größere Schädigung der Mukosa bewirkt als die Taurocholsäure, eine Trihydroxy-Gallensäure (56).
Dies alles sind nicht zu vernachlässigende mögliche Komplikationen einer Enymtherapie mit Gallezusatz.
Es ist daher zu verstehen, daß die galenische Zubereitung der Kombinationspräparate diesen möglichen Risiken Rechnung tragen muß; d.h. die Hüllsubstanzen der Präparate müssen säurefest sein und eine Auflösung der Medikamente und damit Freisetzung der Gallensäuren erst in tieferen Dünndarmabschnitten gewährleisten. Da dies auch im Sinne der Enzymtherapie sinnvoll ist, kann man jedoch davon ausgehen, daß die Hersteller ihre Dragées, Tabletten oder Kapseln dieser Forderung entsprechend mit einem sicheren "Säureschutzmantel" versehen anpreisen.
Eine weniger bekannte und beachtete Tatsache ist, daß den Gallensäuren auch eine Rolle bei der Bildung von Nierensteinen zukommen kann. So erhöhen vermehrt ins Colon übergetretene Gallensalze die Permeabilität der Colonschleimhaut für Oxalat. Die gleichzeitig von Bakterien aus fetten freigesetzten Fettsäuren binden Kalzium, so daß sich kein unlösliches Oxalat im Dickdarm bilden kann. Dadurch kommt es zur Hyperoxalurie und Oxalatnephrolithiasis. Dies ist v.a. der Fall bei entzündlichen Erkrankungen oder Resektionen des Dünndarms (12, 48, 60).
Gallensäuren haben auch einen Einfluß auf das Wachstum von Zellen. Dies wurde von Jeannin untersucht (26). Dabei erwiesen sich

die Gallensäuren bis auf eine Ausnahme als cytotoxisch, d.h. wachstumshemmend für Zellkulturen von Rattenfibroblasten, Leberepithelzellen oder Colon-Ca-Zellen in Abhängigkeit von ihrer Struktur (Cholsäure, Chenodesoxycholsäure, Desoxycholsäure, Lithocholsäure) und ihrer Konzentration. Lediglich die Lithocholsäure hatte einen proliferativen Effekt auf drei unabhängige Stämme von Leberepithelzellen bei weiterhin cytotoxischem Einfluß auf Fibroblasten und Colon-Ca-Zellen. Dies ist zu vergleichen mit der durch Lithocholsäure induzierten Proliferation von Gallengängen in vivo (44).

Erweiternd dazu macht Kimura eine Aussage zur Cytotoxizität der taurinkonjugierten Gallensäuren, die höher als die der unkonjugierten Gallensäuren sein soll (28).

Die Lithocholsäure, die allerdings normalerweise nicht rückresorbiert und nicht in den enterohepatischen Kreislauf aufgenommen, sondern über die Faeces ausgeschieden wird, kann bei ihrem Auftreten im Blutkreislauf zu Leberschäden führen oder solche schon bestehende aggravieren (21, 22, 49).

Eine gesunde Leber ist jedoch vor der Lithocholsäure durch die Möglichkeit der Sulphatierung dieser Gallensäure geschützt. Bei einer Gallensäurentherapie ist daher mit einer Leberschädigung nicht zu rechnen (27).

Besteht allerdings schon ein Leberschaden, so fragt sich, ob die Sulphatierung noch funktioniert, so daß die Entgiftung der Lithocholsäure, die auch aus der Chenodesoxycholsäure gebildet wird, nicht mehr gewährleistet ist. Dadurch würde die Leber in einem circulus vitiosus weiterhin geschädigt (44).

Was die Zellkinetik betrifft, so weist Gerok darauf hin, daß die Gallensäuren nachgewiesenermaßen die DNA-Synthese des Colon-Epithels stimulieren, also auch direkt die Zellkinetik beeinflussen, was möglicherweise ein Anlaß für eine maligne Veränderung sein könnte (60).

Wenn man nun alle genannten möglichen Nebenwirkungen der Gallensäuren auf die verschiedenen Organsysteme betrachtet, scheint eine Langzeittherapie doch mit nicht unerheblichen Risiken belastet zu sein. Dies hat man wohl erkannt und dadurch deklariert, daß bei einer medikamentösen Steinauflösung eine bestehende Schwangerschaft und ein jugendliches Alter des Patienten als relative Kontraindikationen genannt werden, da die Litholyse wie gesagt eine Langzeittherapie sein muß, deren Wirkungen auf die Dauer und teratogenetischen Effekte zumindest noch nicht bekannt sind (21).
Da aber auch die Pankreasenzymsubstitution eine Langzeittherapie v.a. auch bei jungen Patienten darstellt, muß man sich fragen, ob nicht auch hier der Zusatz von Gallensäuren bzw. Galle zu den Präparaten ein nicht unerhebliches Risiko darstellt. Das vor allem auch deshalb, weil die Studie von Nassif zeigt, daß der Zusatz von Gallensäuren zu Pankreasenzympräparaten keine Vorteile gegenüber einer alleinigen Enzymtherapie bringt (41).
Im übrigen soll der bei der Pankreasinsuffizienz konsekutive Mangel an Gallensäuren, der durch geringere postprandiale Sekretion und durch Ausfällung von Gallensäuren im sauren Milieu bedingt ist, sehr gut auf eine Therapie mit Pankreatin und Cimetidin ansprechen (47). Dadurch steigen die Konzentrationen der Gallensäuren im Duodenum signifikant an und erreichen einen mit Gesunden vergleichbaren Spiegel.
Berücksichtigt man die zahlreichen potentiellen Nebenwirkungen und Risiken einer längeren Medikation von Gallensäuren, und stellt man sie der Wirksamkeit gegenüber, so muß man zumindest von einer Langzeittherapie mit Pankreasenzympräparaten, die diesen Zusatz enthalten, abraten und der alleinigen Enzymtherapie den Vorzug geben.

8. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird zum einen eine enzymatische Methode zur quantitativen Bestimmung der Gallensäuren mit 3α-Hydroxylgruppe in Pankreasenzympräparaten beschrieben, und zum anderen erfolgt eine qualitative Identifizierung der Gallensäuren mittels dünnschichtchromatographischer Analyse, wobei gleichzeitig eine grob quantitative Einschätzung der einzelnen aufgefundenen Gallensäuren durchgeführt wurde.

Damit konnte für jedes Präparat ein Gallensäurenmuster, d.h. Art und Menge der vorliegenden Gallensäuren, aufgestellt werden.

Der absolute Gehalt an Gallensäuren in den Medikamenten schwankte dabei zwischen 44,93 mg pro Tablette bei Pankreon forte und 11,73 mg bei Combiase spezial. Das Hauptfeld der Präparate wies Werte zwischen 27 und 33 mg Gallensäuren pro Tablette auf. Bezieht man den Gallensäurengehalt auf 100 mg Tablettengewicht, so steht das Medikament Pankreon compositum bei einem geringen Tablettengewicht mit einem relativen Gallensäurengehalt von 10,54 mg pro 100 mg Tablettengewicht an der Spitze der 15 Präparate mit einem Zusatz an Gallensäuren (11 Medikamente enthielten keine Gallensäuren, ein Präparat nur eine einzige, mit dem Enzymkit nicht zu messende Gallensäure). Den geringsten relativen Gallensäurengehalt hatte allerdings ebenfalls das Präparat Combiase spezial mit 2,14 mg pro 100 mg Tablettengewicht. Der Großteil der Präparate lag hier in einem Bereich von 4-6 mg Gallensäuren pro 100 mg Tablettengewicht.

Die Dünnschichtchromatographie zeigte, daß bei allen Präparaten vor allem die Cholsäure, die Desoxycholsäure und die Chenodesoxycholsäure sowie deren Glyco- und Taurokonjugate vorlagen. Als Ausnahme sind lediglich Bilipeptal forte, das nur die unkonjugierten Säuren, und Gillazym Sandoz, das lediglich die unkonjugierte Dehydrocholsäure enthielt, zu nennen.

Insgesamt konnten damit die Angaben der Hersteller über die ihren Präparaten zugesetzte Menge und Art der Gallensäuren weitestgehend bestätigt werden.

Ob jedoch ein Zusatz von Gallensäuren zu Pankreasenzympräparaten anzuraten ist, muß aber aufgrund der doch großen Anzahl von Literaturstellen bezweifelt werden, die eine Vielzahl von Nebenwirkungen einer Langzeitmedikation mit Gallensäuren diskutiert haben.

Da diese Nebenwirkungen von Diarrhoen über Leberfunktionsstörungen bis hin zur möglichen Kanzerogenität im Sinne eines "Promotereffektes" reichen, ist der Gallensäurenzusatz zu Pankreasenzympräparaten eher abzulehnen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Bertók, L.: Physico-chemical defense of vertebrate organisms: The role of bile acids in defense against bacterial endotoxins. Perspectives in Biology and Medecine 21, 70-76, 1977.
2. Brühl, W., Schmid, E.: Quantitative Bestimmung der nach Hydrolyse freigesetzten konjugierten Gallensäuren auf Dünnschichtchromatogrammen mit Spektrofotofluorometrie. Z. Gastroenterol 10, 40-43, 1972.
3. Bruusgaard, A.; Quantitative Determination of the Major 3α-Hydroxy Bile Acids in Biological Material after Thin-layer Chromatographic Separation. Clin. Chim. Acta 28, 499-504, 1970.
4. Camilleri, M., Murphy, R., Chadwick, V.S.: Dose-Related Effects of Chenodeoxycholic Acid in the Rabbit Colon. Digest. Dis. Sci. 25, 433-438, 1980.
5. Caspary, W.R., Kausch, H.: Funktionelle Beeinflussung der Magenschleimhaut durch gepufferte und ungepufferte Acetylsalicylsäure und Gallensäuren. Inn. Med. 4, 153-157, 1978.
6. Chadwick, V.S.: Bile acids: effects on intestinal permeability. Ital. J. Gastroenterol. 10, 35-36, 1978.
7. Crisafio, R., Chatten, L.G.: The Application of Nonaqueous Titrimetry to the Determinations of Cholic, Desoxycholic, and Dehydrocholic Acids. J.Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 44, 529-532, 1955.
8. Dollinger, H.C.: Melabsorptionssyndrome bei spezifischen Störungen des Gallensäurestoffwechsels. Krankenhausarzt 52, 220-228, 1979.
9. Fausa, O.: Quantitative Determination of Serum Bile Acids Using a Purified 3α-Hydroxysteroid Dehydrogenase. Scand. J. Gastroent. 10, 747-752, 1975.
10. Fausa, O., Skalhegg, B.A.: Quantiative Determination of Bile Acids and Their Conjugates Using Thin-layer Chromatography and a Purified 3α-Hydroxysteroid Dehydrogenase. Scand. J. Gastroent. 9, 249-254, 1974.

11. Forist, A.A., Johnson, J.L.: Steroids. Bile Acids and Bile Salts. Pharmaceutical Analysis, P. 114-116.

12. Fromm, H.: Folgen der Cholestase und des gestörten Gallensäurenstoffwechsels für die Darmfunktion. Referat. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 85. Kongreß in Wiesbaden, April 1979.

13. Frosch, B., Wagener, H.: Methoden und Ergebnisse der quantitativen Bestimmung der konjugierten Serumgallensäuren bei Erkrankungen der Leber. Klin. Wschr. 46, 913-922, 1968.

14. Frosch B., Wagener, H.: Quantitative Determination of Conjugated Bile Acids in Serum in Acute Hepatitis. Nature 213, 404-405, 1967.

15. Gänshirt, H., Koss, F.-W., Morianz, K.: Untersuchung zur quantitativen Auswertung der Dünnschichtchromatographie. Arzneimittelforschung 10, 943-947, 1960.

16. Gerok, W.: Gallensäurestoffwechsel und Lyse der Gallensteine. Med. Welt 29, 53-56, 1978.

17. Gregg, J.A.: New solvent systems for thin-layer chromatography of bile acids. J. Lipid Res. 7, 579-581, 1966.

18. Haslewood, G.A.D.: The Biological Importance of Bile Salts. North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 130-135, 185-189, 1978.

19. Heinkel, K.: Gallensäuren zerstören Mukosabarriere. Die klinische Bedeutung des gastroduodenalen Refluxes. Ärztl. Praxis 30, 2304, 1978.

20. Hill, M.J., Draser, B.S., Williams, R.E.P., Meade, T.W., Cox, A.G., Simpson, J.E.P., Morson, B.C.: Fecal bile acids and clostridia in patients with cancer of the large bowel. Lancet 2, 535-539, 1975.

21. Holub, K.: Das Problem der Gallensteinauflösung. Zbl. Chirurgie 102, 833-838, 1977.

22. Hrabák, P., Dôsková, M., Soucková, E.: Gallensäurenmetabolismus und unsere Erfahrungen mit Chenodesoxycholsäure in medikamentöser Auflösung von Cholesterin-Gallensteinen. IV. Bilaterales Symposium DDR-CSSR. Fortschritte der Gastroenterologie. Bad Berka/DDR, 4.-6. Januar 1979.

23. Huang, T.-L., Nichols, B.L.: New solvent systems for the separation of free and conjugated bile acids. J. Chromatography 101, 235-239, 1974.

24. Iwata, T., Yamasaki, K.: Enzymatic Determination and Thin-layer Chromatography of Bile Acids in Blood. J. Biochem. 56, 424-431, 1964.

25. James, A.T., Morris, L.J.: New Biochemical Separations. B. van Nostrand Company Ltd. London. Darin: Hoffmann, A. F.: Thin-layer Chromatography of Bile Acids and their Derivatives. Chapter 12, 261-282, 1965.

26. Jeannin, J.-F., Chessebeuf, M., Martin, M.-S., Lagneau, A.: Action des acides biliaires sur la croissance de cultures cellulaires obtenues a partir de foie ou de cancers intestinaux de rat. Gastroenterol. Clin. Biol. 2, 39-47, 1978.

27. Kern, F.: Bile acids as a cause of liver disease. Ital. J. Gastroent. 10, 7,1978.

28. Kimura, T.: Cytotoxicity of bile acids on cultured cells. Jap. J. Gastroent. 77, 185-194, 1980.

29. Konder, H., Dennhardt, R., Haberich, F.J.: Die Wirkung unkonjugierter Gallensäuren auf die Elektrolyt- und Wasserabsorption im proximalen Jejunum. Res. Exp. Med. 175, 37-49, 1979.

30. Konder, H., Dennhardt, R., Haberich, F.J.: Die Wirkung von Desoxycholat auf die Elektrolyt- und Wasserabsorption im terminalen Ileum. Res. Exp. Med. 178, 141-150, 1981.

31. Kottke, B.A., Wollenweber, J., Owen, C.A.: Quantitative Thin-layer Chromatography of Free and Conjugated Cholic Acid in Human Bile and Duodenal Contents. J. Chromatography 21, 439-447, 1966.

32. Mastromarino, A.J.: Bile Acids and Large Bowel Carcinogenesis. Summary. National Large Bowel Cancer Project. University of Texas System Cancer Center. Workshop, January 17-19, 1980.

33.Mayer, D., Haindl, H., Koss, F.-W., Lamprecht, W.: Enzymatische Bestimmung von Gallensäuren in Körperflüssigkeiten und Geweben. Z.anal. Chem. 242-248, 1968.

34.Möckel, G ., Hess, W.: Röntgenbefunde am Digestionstrakt bei Gallensäurentherapie. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 86. Tagung in Wiesbaden, April 1980.

35.Molitor, M.: Vergleichende Untersuchungen der Enzymaktivitäten in Pankreasenzympräparaten des deutschen Marktes. Inaugural-Dissertation, Tübingen 1983.

36.Moskovitz, M., White, C., Barnett, R.N., Stevens, S., Russel, E., Vargo, D., Floch, M.H.: Diet, Fecal Bile Acids, and Neutral Sterols in Carcinoma of the Colon. Digest. Dis. Sci. 24, 746-751, 1979.

37.Mower, H.F., Ray, R.M., Shoff, R., Stemmermann, G.N., Nomura, A., Glober, G., Kamiyama, S., Shimada, A., Yamakawa, H.: Fecal Bile Acids in Two Japanese Populations with Different Colon Cancer Risks. Canc. Res. 39, 328-331, 1979.

38.Mudd, D.C., McKelvey, S.T.D., Sloan, J.M., Elmore, D.T.: Fecal bile acid concentrations in patients at increased risk of large bowel cancer. Acta Gastro-Ent. Belg. 41, 241-244, 1978.

39.Murphy, G.M., Billing, B.H., Baron, D.N.: A fluorimetric and enzymatic method for the estimation of serum total bile acids. J. clin. Path. 23, 594-598, 1970.

40.Narisawa, T., Reddy, B.S., Weisburger, J.H.: Effect of Bile Acids and Dietary Fat on Large Bowel Carcinogenesis in Animal Models. Gastroent. Japonica 13, 206-212, 1978.

41.Nassif, E.G., Younoszai, M.K., Weinberger, M.M., Nassif, C.M.: Comparative effects of antacids, enteric coating, and bile salts on the efficiacy of oral pancreatic enzyme therapy in cystic fibrosis. J. Pediat. 98, 320-323,1981.

42.O'Moore, R.R.L., Percy-Robb, I.W.: Analysis of Bile Acids and Their Conjugates in Jejunal Juice by Thin-layer Chromatography and Direct Densitometry. Clin. Chim. Acta 43, 39-47, 1973.

43.Osnes, M.: Does Human Bile Stimulate the Exocrine Pancreas? Scand. J. Gastroent. 16, 45-47, 1981.

44.Palmer, R.H.: Toxic Effects of Lithocholate on the Liver and Biliary Tree. In: The Hepatobiliary System. Ed. W. Taylor, Plenum Press, N.Y. 227-243, 1978.

45.Panveliwalla, D., Lewis, B., Wootton, I.D.P., Tabaqchali, S.: Determination of individual bile acids in biological fluids by thin-layer chromatography and fluorimetry. J. clin. Path. 23, 309-314, 1970.

46.Reber, H.A., Mosley, J.G.: The effect of bile salts on the pancreatic duct mucosal barrier. Br. J. Surg. 67, 59-62, 1980.

47.Regan, P.T., Malagelada, J.-R., Dimagno, E.P., Go, V.L.W.: Reduced Intraluminal Bile Acid Concentrations and Fat Maldigestion in Pancreatic Insufficiency: Correction by Treatment. Gastroent. 77, 285-289, 1979.

48.Schmack, B.: Klinische Bedeutung der Gallensäuren. Fortschr. Med. 97, 690-693, 1979.

49.Schoenfield, L.J.: Bile salts and diarrhoea. Ital. J. Gastroent. 10, 37-39, 1978.

50.Skalhegg, B.A.: On the 3α-Hydroxysteroid Dehydrogenase from Pseudomonas testosteroni. Purification and Properties. Eur. J. Biochem. 46, 117-125, 1974.

51.Stahl, R.: Dünnschichtchromatographie. Ein Laboratoriumshandbuch. Springer-Verlag 61-70, 1967. Darin: Neher, R.: Dünnschichtchromatographie von Steroiden und verwandten Verbindungen, 302-342.

52.Starlinger, M., Schiessel, R., Hofbauer, F., Bratusch-Marrein, P.: Permeabilität der Magenschleimhaut für Karzinogene bei taurocholatinduzierter Schädigung der Mukosabarriere. Akt. Gastrologie 8, 33-37, 1979.

53.Stiehl, L., Ast, E., Czygan, P., Fröhling, W., Raedsch, R., Stiehl, A., Kommerell, B.: Die Serumgallensäuren bei Patienten mit hepatobiliären Erkrankungen: Ein empfindlicher Indikator eines Leberparenchymschadens oder einer Cholestase. Inn. Med. 5, 14-21, 1978.

54. Turnberg, L.A., Anthony-Mote, A.: The Quantitative Determination of Bile Salts in Bile Using Thin-layer Chromatography and 3α- Hydroxysteroid Dehydrogenase. Clin. Chim. Acta 24, 253-259, 1969.

55. Usui, T.: Thin-layer Chromatography of Bile Acids with Special Reference to Separation of Keto Bile Acids. J. Biochem. 54, 283-286, 1963.

56. Wallace, P.R., Felger, T.S.: Differing ulcerogenic potential of dihydroxy and trihydroxy bile acids in canine gastric mucosa. Surgery 89, 342-347, 1981.

57. Watanabe, K., Narisawa, T., Wong, C.Q., Weisburger, J.H.: Effect of Bile Acids and Neutral Sterols on Benzo(a)pyrene-Induced Tumorigenesis in Skin of Mice: Brief Communication. J. Natl. Canc. Inst. 60, 1501-1503, 1978.

58. Wolf, A.: Untersuchungen des Puringehalts von Pankreasenzympräparaten. Inaugural-Dissertation, Tübingen 1982.

59. Ohne Autorenangabe: Dehydrocholic acid tablets. The Pharmacopeia of the United States of America USP XV, 196-197, 1955.

60. Ohne Autorenangabe: Gallensäuren als Krankheitsursache. 11. Int. Gastroenterologenkongress in Hamburg. Münch. Med. Wschr. 122, 1083-1084, 1980.

ANHANG

		Seite
A.)	Ergebnisse, Tabellen und Abbildungen zur Bestimmung der Gallensäuren auf enzymatischem Wege	61
B.)	Ergebnisse, Tabellen und Abbildungen zur Bestimmung der Gallensäuren auf dünnschichtchromatographischem Wege	113

A.) Ergebnisse, Tabellen und Abbildungen zur Bestimmung der Gallensäuren auf enzymatischem Wege.

Tab. 1: Meßwerte zu 3.2.1.1. Lösungsversuch mit reiner Cholsäure

Lösungs-mittel	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
		Probe	Leerwert			
L I	1	0,642	0,103	0,539	0,503	0,582
	2	0,743	0,103	0,640	0,604	
	3	0,778	0,102	0,676	0,640	
L II	1	0,293	0,103	0,190	0,154	0,156
	2	0,300	0,102	0,198	0,162	
	3	0,292	0,103	0,189	0,153	
L III	1	0,328	0,103	0,325	0,289	0,350
	2	0,551	0,101	0,450	0,414	
	3	0,483	0,101	0,382	0,346	
L IV	1	0,800	0,094	0,706	0,670	0,675
	2	0,808	0,092	0,716	0,680	
	3	0,800	0,090	0,710	0,674	
L V	1	0,177	0,102	0,075	0,039	0,034
	2	0,166	0,102	0,064	0,028	
	3	0,171	0,101	0,070	0,034	

Der Korrekturwert (siehe 3.1.4.) ergab: III - IV = 0,036

Tab. 2: Meßwerte zu 3.2.1.2. Lösungsversuch mit Enzym gallo sanol

Lösungs-mittel	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
L I	1	0,820	0,396	0,424	0,391	0,402
	2	0,850	0,388	0,462	0,429	
	3	0,860	0,440	0,420	0,387	
L II	1	0,336	0,132	0,204	0,171	0,184
	2	0,328	0,153	0,175	0,142	
	3	0,422	0,148	0,274	0,241	
L III	1	0,491	0,226	0,265	0,232	0,268
	2	0,480	0,179	0,301	0,268	
	3	0,545	0,208	0,337	0,304	
L IV	1	0,735	0,114	0,621	0,588	0,567
	2	0,735	0,125	0,610	0,577	
	3	0,700	0,132	0,568	0,535	
L V	1	0,753	0,337	0,416	0,383	0,388
	2	0,741	0,296	0,445	0,412	
	3	0,762	0,361	0,401	0,368	

Der Korrekturwert ergab: III - IV = 0,033

Tab. 3: Meßwerte zu 3.2.1.3. Lösungsversuch mit Pankreon forte

Lösungs-mittel	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
L I	1	0,680	0,136	0,544	0,517	
	2	0,680	0,123	0,557	0,530	0,531
	3	0,710	0,138	0,572	0,545	
L II	1	0,376	0,172	0,204	0,177	
	2	0,406	0,182	0,224	0,197	0,168
	3	0,298	0,142	0,156	0,129	
L III	1	0,305	0,137	0,168	0,141	
	2	0,315	0,115	0,200	0,173	0,157
	3	0,322	0,137	0,185	0,158	
L IV	1	0,735	0,081	0,654	0,627	
	2	0,788	0,101	0,687	0,660	0,645
	3	0,780	0,105	0,675	0,648	
L V	1	0,675	0,131	0,544	0,517	
	2	0,660	0,127	0,533	0,506	0,511
	3	0,675	0,137	0,538	0,511	

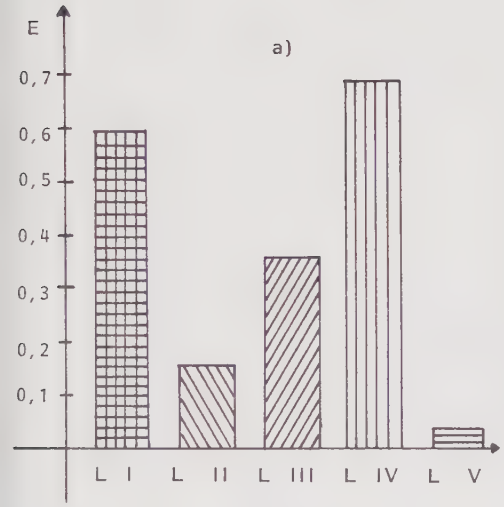
Der Korrekturwert ergab: III - IV = 0,027

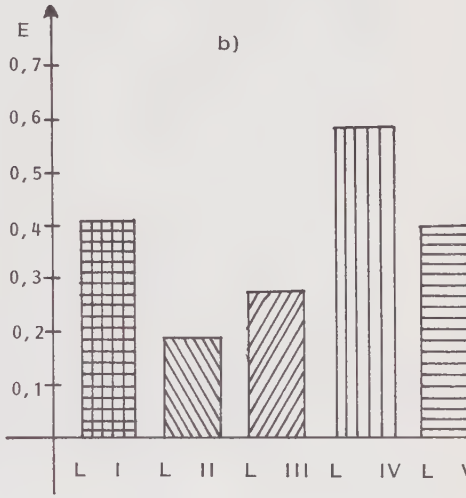
Tab. 4: Meßwerte zu 3.2.1.4. Lösungsversuch mit Femkalon

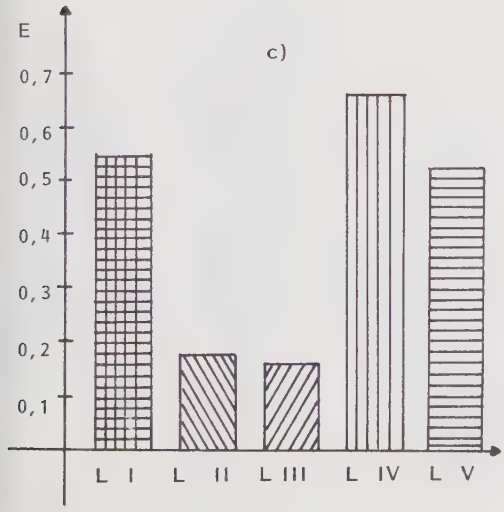
Lösungs-mittel	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
L I	1	0,590	0,106	0,484	0,451	0,451
	2	0,605	0,098	0,507	0,474	
	3	0,570	0,108	0,462	0,429	
L II	1	0,354	0,107	0,247	0,214	0,237
	2	0,405	0,086	0,319	0,286	
	3	0,355	0,112	0,243	0,210	
L III	1	0,308	0,090	0,218	0,185	0,187
	2	0,324	0,110	0,214	0,181	
	3	0,336	0,107	0,229	0,196	
L IV	1	0,620	0,083	0,537	0,504	0,516
	2	0,630	0,086	0,544	0,511	
	3	0,650	0,085	0,565	0,532	
L V	1	0,585	0,136	0,449	0,416	0,424
	2	0,585	0,125	0,460	0,427	
	3	0,580	0,117	0,463	0,430	

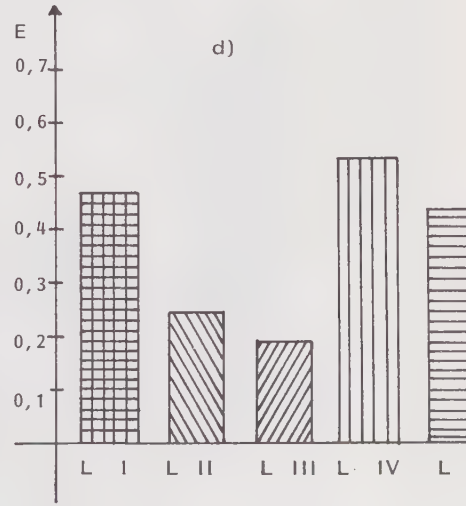
Der Korrekturwert ergab: III - IV = 0,033

Abb. 1: Lösungsversuch in 5 verschiedenen Lösungsmitteln (L I - L V)
Mittlere Extinktionswerte beim Lösungsversuch
a) mit reiner Cholsäure
b) mit Enzym gallo sanol
c) mit Pankreon forte
d) mit Femkalon





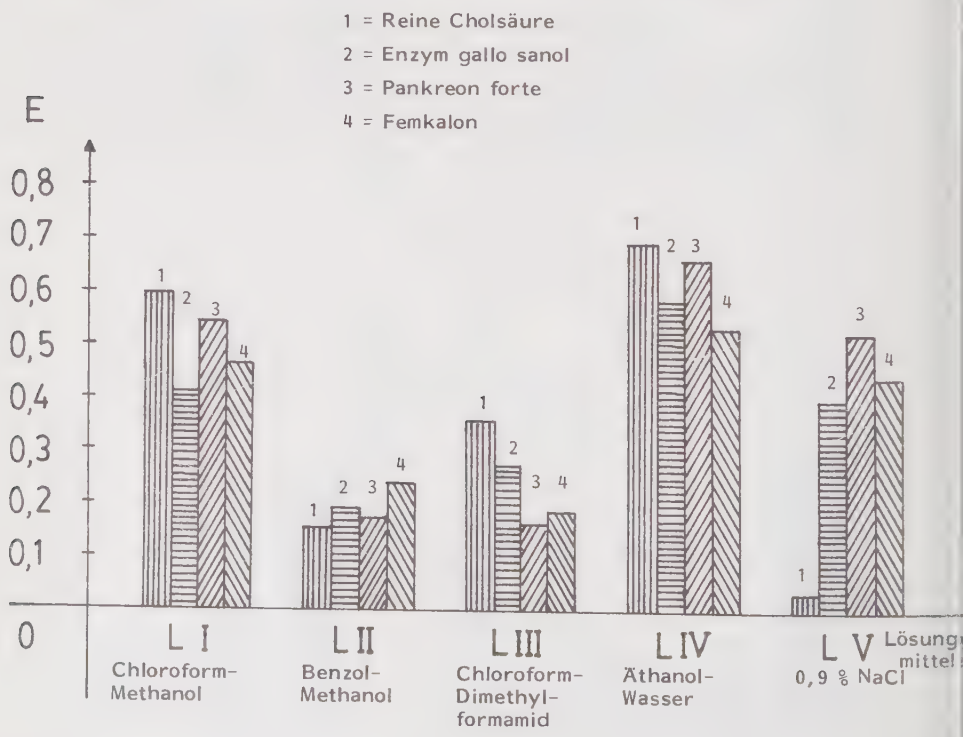




Tab. 5: Gesamtübersicht der durchschnittlichen Extinktionswerte, die bei den Lösungsversuchen mit reiner Cholsäure und drei Medikamenten in fünf verschiedenen Lösungsmitteln gemessen wurden.

Lösungsversuch	L I	L II	L III	L IV	L V
3.2.1.1. Reine Cholsäure	0,582	0,156	0,350	0,675	0,034
3.2.1.2. Enzym gallo sanol	0,402	0,184	0,268	0,567	0,388
3.2.1.3. Pankreon forte	0,531	0,168	0,157	0,645	0,511
3.2.1.4. Femkalon	0,451	0,237	0,187	0,516	0,424
Gesamt	1,966	0,745	0,962	2,403	1,357

Abb. 2: Graphische Darstellung der Extinktionswerte aus Tabelle 5.



Tab. 6: Meßwerte zu den Löslichkeitsversuchen bei verschiedenen pH - Werten.
3.2.2.1. Reine Cholsäure

Lösungsmittel	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
pH 5	1	0,685	0,084	0,601	0,572	0,577
	2	0,695	0,084	0,611	0,582	
	3	0,690	0,084	0,606	0,577	
pH 6	1	0,703	0,085	0,618	0,589	0,578
	2	0,681	0,083	0,598	0,569	
	3	0,688	0,084	0,604	0,575	
pH 6,84	1	0,680	0,084	0,596	0,567	0,584
	2	0,708	0,082	0,626	0,597	
	3	0,698	0,082	0,616	0,587	
pH 8	1	0,700	0,090	0,610	0,581	0,574
	2	0,680	0,082	0,598	0,569	
	3	0,684	0,082	0,602	0,573	
pH 9	1	0,690	0,087	0,603	0,574	0,574
	2	0,678	0,083	0,595	0,566	
	3	0,695	0,083	0,612	0,583	

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,029

Tab. 7: Meßwerte zu den Löslichkeitsversuchen bei verschiedenen pH - Werten.
3.2.2.2. Enzym gallo sanol

Lösungsmittel	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
pH 5	1	0,703	0,173	0,530	0,500	0,498
	2	0,690	0,169	0,521	0,491	
	3	0,705	0,171	0,534	0,504	
pH 6	1	0,701	0,205	0,496	0,466	0,494
	2	0,715	0,170	0,545	0,515	
	3	0,708	0,177	0,531	0,501	
pH 6,84	1	0,710	0,199	0,511	0,481	0,489
	2	0,719	0,189	0,530	0,500	
	3	0,711	0,194	0,517	0,487	
pH 8	1	0,710	0,207	0,503	0,473	0,492
	2	0,715	0,180	0,535	0,505	
	3	0,714	0,187	0,527	0,497	
pH 9	1	0,710	0,199	0,501	0,481	0,487
	2	0,718	0,197	0,521	0,491	
	3	0,715	0,196	0,519	0,489	

Der Korrekturwert ergab: III - IV = 0,030

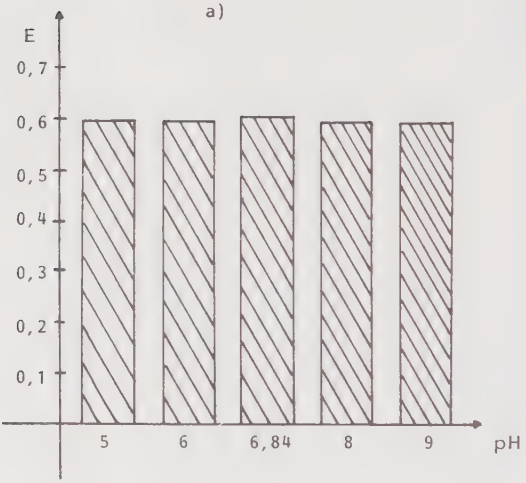
Tab. 8: Meßwerte zu den Löslichkeitsversuchen bei verschiedenen pH - Werten.

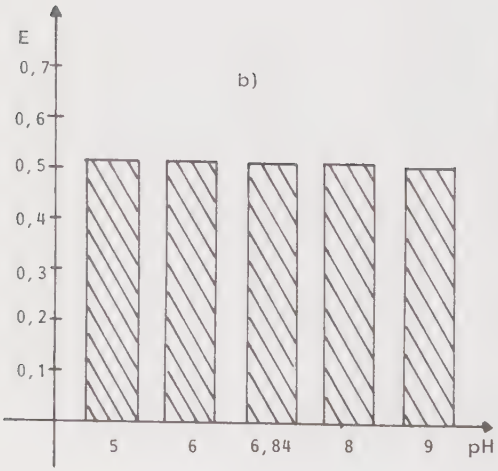
3.2.2.3. Ozym

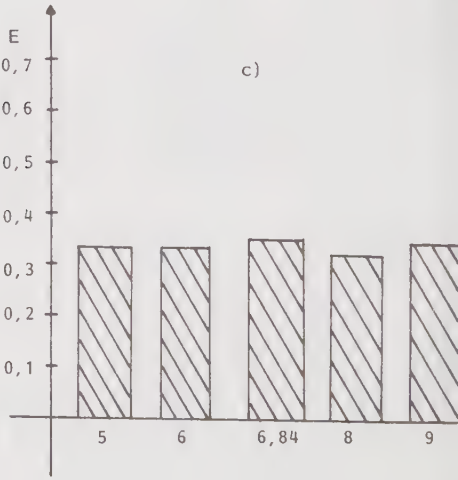
Lösungsmittel	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
pH 5	1	0,486	0,122	0,364	0,334	0,333
	2	0,492	0,122	0,370	0,340	
	3	0,479	0,124	0,355	0,325	
pH 6	1	0,470	0,138	0,332	0,302	0,305
	2	0,488	0,173	0,315	0,285	
	3	0,486	0,128	0,358	0,328	
pH 6,84	1	0,495	0,122	0,373	0,343	0,341
	2	0,512	0,146	0,366	0,336	
	3	0,498	0,123	0,375	0,345	
pH 8	1	0,499	0,183	0,316	0,286	0,322
	2	0,490	0,123	0,367	0,337	
	3	0,494	0,122	0,372	0,342	
pH9	1	0,477	0,122	0,355	0,325	0,323
	2	0,487	0,125	0,362	0,332	
	3	0,509	0,167	0,342	0,312	

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,030

Abb. 3: Lösungsversuche bei verschiedenen pH - Werten. Mittlere Extinktionswerte bei Lösungsversuchen
a) mit reiner Cholsäure
b) mit Enzym gallo sanol
c) mit Ozym







Tab. 9: Meßwerte zu den Löslichkeitsversuchen bei verschiedenen Temperaturen.
Ausgangswerte bei 25°C (Raumtemperatur), also ohne vorherige Inkubation.
B 1, B2 und B 3 = Ansatz 1,2 und 3 von Bilipeptal f.
F 1, F 2 und F 3 = Ansatz 1,2 und 3 von Fermento san.

Ansatz	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
		Probe	Leerwert			
B 1	1	0,694	0,088	0,606	0,574	0,599
	2	0,730	0,088	0,642	0,610	
	3	0,735	0,089	0,646	0,614	
B 2	1	0,698	0,085	0,613	0,581	0,611
	2	0,738	0,084	0,654	0,622	
	3	0,745	0,084	0,661	0,629	
B 3	1	0,715	0,085	0,630	0,598	0,622
	2	0,745	0,083	0,662	0,630	
	3	0,755	0,084	0,671	0,639	
F 1	1	0,624	0,095	0,529	0,497	0,529
	2	0,680	0,092	0,588	0,556	
	3	0,658	0,092	0,566	0,534	
F 2	1	0,620	0,110	0,510	0,478	0,511
	2	0,655	0,108	0,547	0,515	
	3	0,663	0,090	0,573	0,541	
F 3	1	0,628	0,107	0,521	0,489	0,515
	2	0,649	0,098	0,551	0,519	
	3	0,662	0,092	0,570	0,538	

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,032

Tab. 10: Meßwerte zu den Löslichkeitsversuchen bei verschiedenen Temperaturen.
Messung nach einer Inkubationszeit von 2 Stunden.
B 1 und F 1 bei Zimmertemperatur (25°C)
B 2 und F 2 bei 30° C (Wasserbad)
B 3 und F 3 bei 37° C (Wasserbad)

Ansatz	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
		Probe	Leerwert			
B 1	1	0,640	0,083	0,557	0,526	0,575
	2	0,720	0,084	0,636	0,605	
	3	0,709	0,083	0,626	0,595	
B 2	1	0,685	0,083	0,602	0,571	0,607
	2	0,737	0,084	0,653	0,622	
	3	0,742	0,083	0,659	0,628	
B 3	1	0,695	0,081	0,614	0,583	0,636
	2	0,777	0,080	0,697	0,666	
	3	0,770	0,079	0,691	0,660	
F 1	1	0,605	0,111	0,494	0,463	0,500
	2	0,655	0,105	0,550	0,519	
	3	0,655	0,107	0,548	0,517	
F 2	1	0,605	0,117	0,488	0,457	0,499
	2	0,662	0,114	0,548	0,517	
	3	0,673	0,119	0,554	0,523	
F 3	1	0,604	0,093	0,511	0,480	0,502
	2	0,650	0,102	0,548	0,517	
	3	0,650	0,111	0,539	0,508	

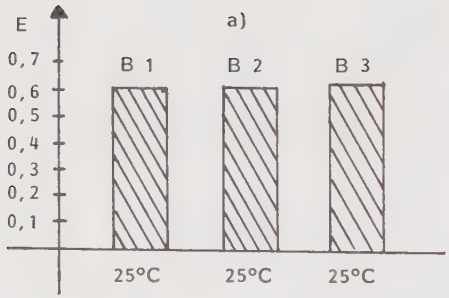
Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,031

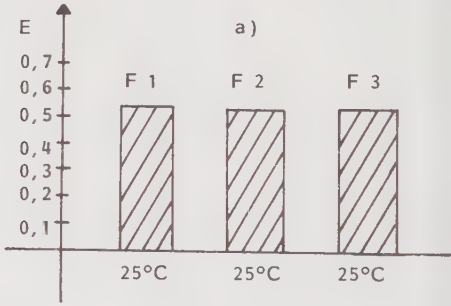
Tab. 11: Meßwerte zu den Löslichkeitsversuchen bei verschiedenen Temperaturen.
Messung nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden.
B 1 und F 1 bei Zimmertemperatur (25° C)
B 2 und F 2 bei 30° C (Wasserbad)
B 3 und F 3 bei 37° C (Wasserbad)

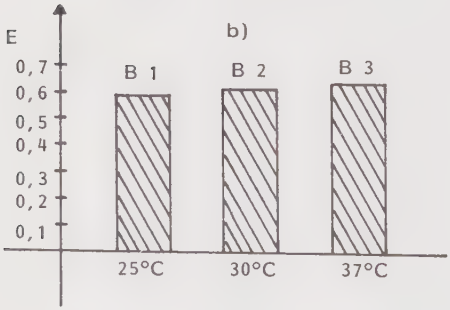
Ansatz	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)	mittlere Ext. ΔE
B 1	1	0,680	0,083	0,597	0,569	0,599
	2	0,720	0,085	0,635	0,607	
	3	0,734	0,084	0,650	0,622	
B 2	1	0,685	0,085	0,660	0,572	0,603
	2	0,730	0,085	0,645	0,617	
	3	0,732	0,084	0,648	0,620	
B 3	1	0,716	0,086	0,630	0,602	0,632
	2	0,770	0,088	0,682	0,654	
	3	0,755	0,088	0,667	0,639	
F 1	1	0,608	0,102	0,506	0,478	0,511
	2	0,643	0,107	0,536	0,508	
	3	0,670	0,094	0,576	0,548	
F 2	1	0,603	0,123	0,480	0,452	0,502
	2	0,672	0,123	0,549	0,521	
	3	0,680	0,119	0,561	0,533	
F 3	1	0,620	0,117	0,503	0,475	0,516
	2	0,670	0,115	0,555	0,527	
	3	0,687	0,114	0,573	0,545	

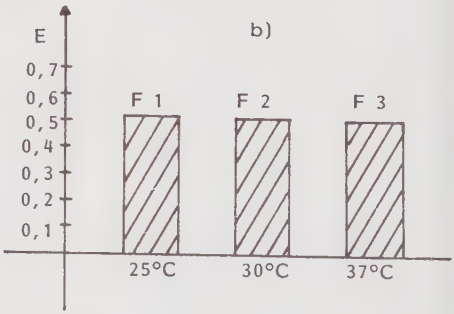
Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,028

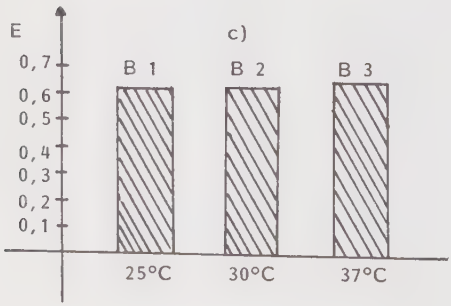
Abb. 4: Lösungsversuche bei verschiedenen Temperaturen
B 1, B 2 und B 3 = Ansätze 1, 2 u. 3 von Bilipeptal forte
F 1, F 2 und F 3 = Ansätze 1, 2 u. 3 von Fermento sanol
a) Extinktionswerte bei Raumtemperatur (25°C) ohne vorherige Inkubationszeit (Ausgangswerte).
b) Extinktionswerte nach Inkubationszeit von 2 Stunden
B 1 + F 1 bei 25°C, B 2 + F 2 bei 30°C, B 3 + F 3 bei 37°C
c) Extinktionswerte nach Inkubationszeit von 4 Stunden
B 1 + F 1 bei 25°C, B 2 + F 2 bei 30°C, B 3 + F 3 bei 37°C











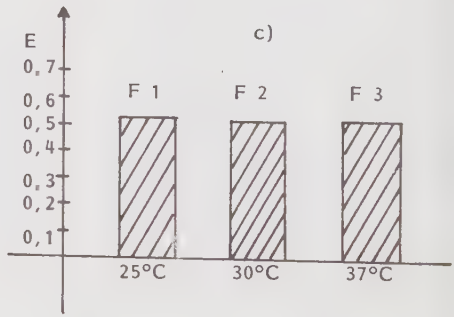


Abb. 5: Lösungsversuche bei verschiedenen Temperaturen. Zeigt die Unabhängigkeit der Extinktionswerte von der Inkubationszeit.

T_o = Zeitpunkt der Messung der Ausgangswerte ohne Inkubation

T_o + 2h = Messung nach 2-stündiger Inkubation

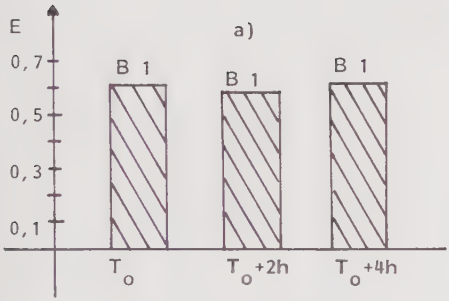
T_o + 4h = Messung nach 4-stündiger Inkubation

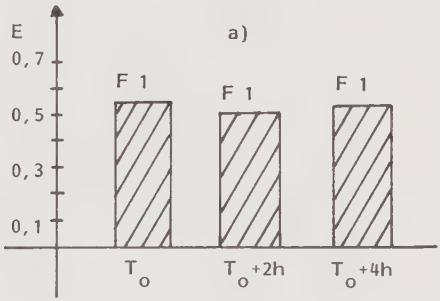
a) B 1 und F 1 mit Inkubation bei 25°C

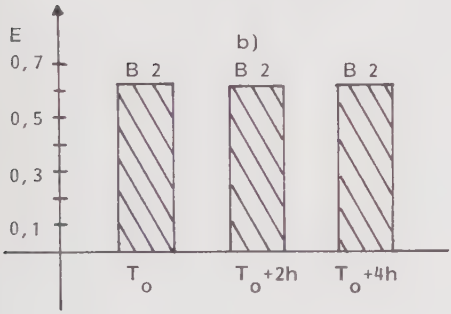
b) B2 und F 2 mit Inkubation bei 30°C

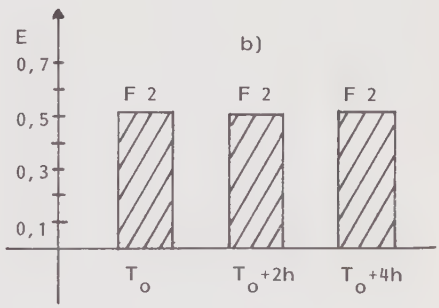
c) B3 und F 3 mit Inkubation bei 37°C

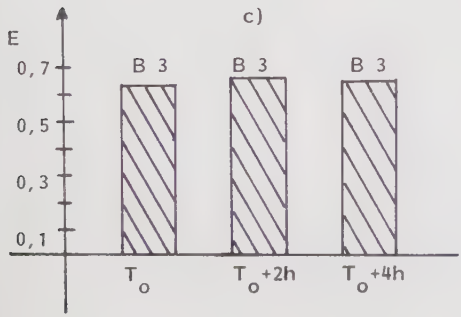
(B = Bilipeptal forte, F = Fermento sanol)

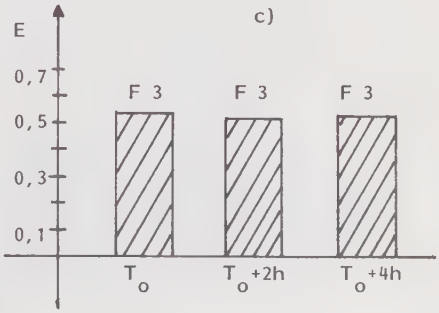












Tab. 12: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
1. Tag

Ansatz	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
10 mg	1	0,191	0,074	0,117	0,084
	2	0,201	0,072	0,129	0,096
	3	0,204	0,072	0,132	0,099
	4	0,202	0,074	0,128	0,095
20 mg	1	0,267	0,075	0,192	0,159
	2	0,284	0,076	0,208	0,175
	3	0,285	0,072	0,213	0,180
	4	0,294	0,075	0,219	0,186
30 mg	1	0,372	0,074	0,298	0,265
	2	0,373	0,102 +)	0,271	0,238
	3	0,365	0,074	0,291	0,258
	4	0,365	0,071	0,294	0,261
40 mg	1	0,412	0,077	0,335	0,302
	2	0,441	0,074	0,367	0,334
	3	0,454	0,075	0,379	0,346
	4	0,440	0,076	0,364	0,331
50 mg	1	0,481	0,075	0,406	0,373
	2	0,500	0,075	0,425	0,392
	3	0,512	0,074	0,438	0,405
	4	0,517	0,075	0,442	0,409
60 mg	1	0,547	0,074	0,473	0,440
	2	0,576	0,073	0,503	0,470
	3	0,582	0,075	0,507	0,474
	4	0,580	0,075	0,505	0,472

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,033

+) In diesem Glas wurden Verschmutzungen gefunden.

Tab. 13: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
2. Tag

Ansatz	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
10 mg	1	0,185	0,062	0,123	0,097
	2	0,185	0,061	0,124	0,098
	3	0,185	0,061	0,124	0,098
	4	0,186	0,062	0,124	0,098
20 mg	1	0,273	0,060	0,213	0,187
	2	0,265	0,061	0,204	0,178
	3	0,271	0,061	0,210	0,184
	4	0,269	0,063	0,206	0,180
30 mg	1	0,350	0,060	0,290	0,259
	2	0,358	0,058	0,300	0,269
	3	0,355	0,061	0,294	0,263
	4	0,352	0,060	0,292	0,261
40 mg	1	0,442	0,059	0,383	0,352
	2	0,433	0,059	0,374	0,343
	3	0,442	0,060	0,382	0,351
	4	0,445	0,059	0,386	0,355
50 mg	1	0,502	0,060	0,442	0,411
	2	0,494	0,059	0,435	0,404
	3	0,512	0,061	0,451	0,420
	4	0,512	0,060	0,452	0,421
60 mg	1	0,568	0,062	0,506	0,475
	2	0,571	0,060	0,511	0,480
	3	0,571	0,061	0,510	0,479
	4	0,577	0,061	0,516	0,485

Der Korrekturwert betrug (10 und 20 mg): III - IV = 0,026

(30,40,50 und 60mg): III - IV = 0,031

Tab. 14: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
3. Tag

Ansatz	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
10 mg	1	0,189	0,064	0,125	0,094
	2	0,191	0,066	0,125	0,094
	3	0,193	0,066	0,127	0,096
	4	0,192	0,063	0,129	0,098
20 mg	1	0,276	0,066	0,210	0,179
	2	0,282	0,066	0,216	0,185
	3	0,274	0,066	0,208	0,177
	4	0,277	0,067	0,210	0,179
30 mg	1	0,357	0,065	0,292	0,259
	2	0,360	0,066	0,294	0,261
	3	0,370	0,066	0,304	0,271
	4	0,366	0,066	0,300	0,267
40 mg	1	0,405	0,068	0,337	0,304
	2	0,438	0,066	0,372	0,339
	3	0,436	0,066	0,370	0,337
	4	0,415	0,066	0,349	0,316
50 mg	1	0,507	0,065	0,442	0,409
	2	0,503	0,065	0,438	0,405
	3	0,522	0,066	0,456	0,423
	4	0,497	0,066	0,431	0,398
60 mg	1	0,578	0,068	0,510	0,477
	2	0,575	0,066	0,509	0,476
	3	0,570	0,066	0,504	0,471
	4	0,585	0,066	0,519	0,486

Der Korrekturwert betrug (10 und 20 mg): III - IV = 0,031
(30,40,50 und 60 mg): III - IV = 0,033

Tab. 15: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
Ansatz 1: 10 mg Cholsäure

Durchschnittliche Extinktionswerte, Standardabweichung und Variationskoeffizienten von allen 4 gemessenen Extinktionswerten und den besten 3 gemessenen Extinktionswerten an den drei Tagen sowie von allen 12 Messungen und von 10 Messungen (jeweils ohne den größten und kleinsten Extinktionswert) der drei Meßtage.

Messung am	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1. Tag	4	0,094	0,007	7,013
	3	0,097	0,002	2,153
2. Tag	4	0,098	0,001	0,512
	3	0,098	0,000	0,000
3. Tag	4	0,096	0,002	2,005
	3	0,095	0,001	1,220
1.,2. u. 3. Tag	12	0,096	0,004	4,196
1.,2. u. 3.Tag ohne den gr. u. kl. Ext.-Wert	10	0,096	0,002	1,708

Tab. 16: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
Ansatz 2: 20 mg Cholsäure

Durchschnittliche Extinktionswerte, Standardabweichung und Variationskoeffizienten von allen 4 gemessenen Extinktionswerten und den besten 3 gemessenen Extinktionswerten an den drei Tagen sowie von allen 12 Messungen und von 10 Messungen (jeweils ohne den größten und kleinsten Extinktionswert) der drei Meßtage.

Messung am	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1. Tag	4	0,175	0,012	6,615
	3	0,180	0,006	3,054
2. Tag	4	0,182	0,004	2,212
	3	0,184	0,004	1,912
3. Tag	4	0,180	0,003	1,925
	3	0,178	0,001	0,647
1.,2. u. 3. Tag	12	0,179	0,007	4,113
1.,2. u. 3. Tag ohne den gr. u. kl. Ext.-Wert	10	0,180	0,004	1,992

Tab. 17: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
Ansatz 3: 30 mg Cholsäure

Durchschnittliche Extinktionswerte, Standardabweichung und Variationskoeffizienten von allen 4 gemessenen Extinktionswerten und den besten 3 gemessenen Extinktionswerten an den drei Tagen sowie von allen 12 Messungen und von 10 Messungen (jeweils ohne den größten und kleinsten Extinktionswert) der drei Meßtage.

Messung am	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1. Tag	4	0,256	0,012	4,702
	3	0,261	0,004	1,344
2. Tag	4	0,263	0,004	1,643
	3	0,261	0,002	0,766
3. Tag	4	0,265	0,006	2,082
	3	0,262	0,004	1,587
1.,2. u. 3. Tag	12	0,216	0,008	3,197
1.,2. u. 3. Tag ohne den gr. u. kl. Ext.-Wert	10	0,262	0,004	1,393

Tab. 18: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
Ansatz 4: 40 mg Cholsäure

Durchschnittliche Extinktionswerte, Standardabweichung und Variationskoeffizienten von allen 4 gemessenen Extinktionswerten und den besten 3 gemessenen Extinktionswerten an den drei Tagen sowie von allen 12 Messungen und von 10 Messungen (jeweils ohne den größten und kleinsten Extinktionswert) der drei Meßtage.

Messung am	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1. Tag	4	0,328	0,019	5,685
	3	0,337	0,008	2,355
2. Tag	4	0,350	0,005	1,463
	3	0,353	0,002	0,590
3. Tag	4	0,324	0,017	5,220
	3	0,331	0,013	3,853
1.,2. u. 3. Tag	12	0,334	0,018	5,391
1.,2. u. 3. Tag ohne den gr. u. kl. Ext.-Wert	10	0,335	0,015	4,543

Tab. 19: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
Ansatz 5: 50 mg Cholsäure

Durchschnittliche Extinktionswerte, Standardabweichung und Varaiationskoeffizienten von allen 4 gemessenen Extinktionswerten und den besten 3 gemessenen Extionktionswerten an den drei Tagen sowie von allen 12 Messungen und von 10 Messungen (jeweils ohne den größten und kleinsten Extinktionswert) der drei Meßtage.

Messung am	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1. Tag	4	0,395	0,016	4,108
	3	0,402	0,009	2,211
2. Tag	4	0,414	0,008	1,942
	3	0,417	0,006	1,320
3. Tag	4	0,409	0,011	2,577
	3	0,404	0,006	1,378
1.,2. u. 3. Tag	12	0,406	0,014	3,411
1.,2. u. 3. Tag ohne den gr. u. kl. Ext.-Wert	10	0,407	0,009	2,181

Tab. 20: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
Ansatz 6: 60 mg Cholsäure

Durchschnittliche Extinktionswerte, Standardabweichung und Variationskoeffizienten von allen 4 gemessenen Extinktionswerten und den besten 3 gemessenen Extinktionswerten an den drei Tagen sowie von allen 12 Messungen und von 10 Messungen (jeweils ohne den größten und kleinsten Extinktionswert) der drei Meßtage.

Messung am	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1. Tag	4	0,464	0,016	3,466
	3	0,472	0,002	0,424
2. Tag	4	0,480	0,004	0,857
	3	0,478	0,003	0,554
3 Tag	4	0,478	0,006	1,308
	3	0,475	0,003	0,677
1.,2. u. 3. Tag	12	0,474	0,012	2,485
1.,2. u. 3. Tag ohne den gr. u. kl. Ext.-Wert	10	0,476	0,005	0,963

Tab. 21: Mittlere Extinktionswerte, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der jeweiligen 10 Messungen der sechs verschiedenen Cholsäureansätze, die zur Berechnung der Eichkurve herangezogen werden.

Cholsäure-ansatz mit	Zahl der Messungen (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardab-weichung (s)	Variations-koeffizient (v_k)
10 mg	10	0,096	0,002	1,708
20 mg	10	0,180	0,004	1,992
30 mg	10	0,262	0,004	1,393
40 mg	10	0,335	0,015	4,543
50 mg	10	0,407	0,009	2,181
60 mg	10	0,476	0,005	0,963

Tab. 22: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung reiner Cholsäure zur Erstellung der Eichkurve.
Alle Extinktionswerte der drei verschiedenen Meßtage geordnet.
Durchschnittswert $\bar{x}$ von 10 Meßwerten (jeweils kleinster und größter Extinktionswert wurde gestrichen).

	10 mg	20 mg	30 mg	40 mg	50 mg	60 mg
	0,084	0,159	0,238	0,302	0,373	0,440
	0,094	0,175	0,258	0,304	0,392	0,470
	0,094	0,177	0,259	0,316	0,398	0,471
	0,095	0,178	0,259	0,331	0,404	0,472
	0,096	0,179	0,261	0,334	0,405	0,474
	0,096	0,179	0,261	0,337	0,405	0,475
	0,097	0,180	0,261	0,339	0,409	0,476
	0,098	0,180	0,263	0,343	0,409	0,477
	0,098	0,184	0,265	0,346	0,411	0,479
	0,098	0,185	0,267	0,351	0,420	0,480
	0,098	0,186	0,269	0,352	0,421	0,485
	0,099	0,187	0,271	0,355	0,423	0,486
$\bar{x}$	0,096	0,180	0,262	0,335	0,407	0,476

Diese 6 Durchschnittswerte $\bar{x}$ wurden der Berechnung der Eichkurve zugrunde gelegt. Die Berechnung erfolgte mit dem Rechner HP-25. Sie ergab folgende Werte:

$a_0 = 0,028$
$a_1 = 0,0076$
$r^2 = 1,00$

Daraus ergibt sich die Eichgerade mit der Gleichung:

$$y = 0{,}0076\,x + 0{,}028$$

dabei ist: x mg Cholsäure
y Extinktionswert ΔE - (III - IV)

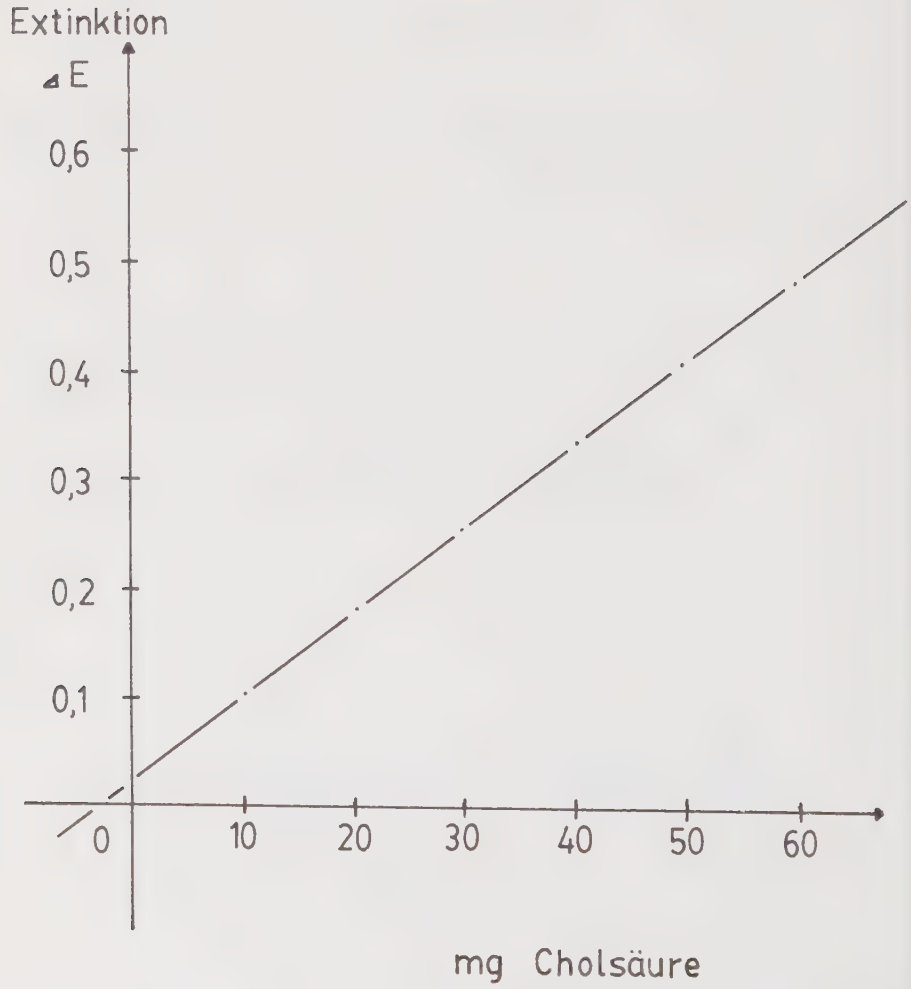
Zur Berechnung des Gallensäuregehalts in den gemessenen Präparaten wird die Formel umgestellt:

$$x = \frac{y - 0{,}028}{0{,}0076}$$

Mit Hilfe der Gleichung der Eichgeraden ließen sich dann die Punkte für eine graphische Darstellung der Eichkurve berechnen:

mg Cholsäure	Extinktion
10	0,104
20	0,180
30	0,256
40	0,332
50	0,408
60	0,484

Abb. 6: Eichgerade für die enzymatische Bestimmung mit der Gleichung $y = 0,0076 x + 0,028$



Tab. 23: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Bilipeptal forte (600 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,398	0,051	0,347	0,317
	2	0,395	0,050	0,345	0,315
	3	0,388	0,052	0,336	0,306
	4	0,395	0,052	0,343	0,313
2	1	0,400	0,054	0,346	0,316
	2	0,402	0,055	0,347	0,317
	3	0,400	0,053	0,347	0,317
	4	0,402	0,053	0,349	0,319
3	1	0,352	0,054	0,298	0,268
	2	0,350	0,054	0,296	0,266
	3	0,346	0,054	0,292	0,262
	4	0,353	0,057	0,296	0,266

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,030

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,313	0,005	1,531
1	3	0,315	0,002	0,635
2	4	0,317	0,001	0,397
2	3	0,317	0,001	0,182
3	4	0,266	0,003	0,948
3	3	0,267	0,001	0,433
1+2+3	12	0,299	0,025	8,248

Tab. 24: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Combiase spezial (500 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
1	1	0,731	0,580	0,151	0,121
	2	0,735	0,590	0,145	0,115
	3	0,721	0,581	0,140	0,110
	4	0,734	0,595	0,139	0,109
2	1	0,728	0,572	0,156	0,123
	2	0,736	0,592	0,144	0,111
	3	0,733	0,593	0,140	0,107
	4	0,730	0,588	0,142	0,109
3	1	0,724	0,572	0,152	0,119
	2	0,714	0,576	0,138	0,105
	3	0,720	0,574	0,146	0,113
	4	0,721	0,583	0,138	0,105

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,030 (Tbl. 1)
0,033 (Tbl. 2+3)

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,114	0,006	4,835
1	3	0,111	0,003	2,887
2	4	0,113	0,007	6,389
2	3	0,109	0,002	1,835
3	4	0,111	0,007	6,160
3	3	0,108	0,005	4,290
1+2+3	12	0,112	0,006	5,414

Tab. 25: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Combizym compositum (500 mg) Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,346	0,068	0,278	0,248
	2	0,351	0,074	0,277	0,247
	3	0,344	0,074	0,270	0,240
	4	0,350	0,071	0,279	0,249
2	1	0,339	0,070	0,269	0,239
	2	0,333	0,073	0,260	0,230
	3	0,330	0,070	0,260	0,230
	4	0,328	0,070	0,258	0,228
3	1	0,352	0,070	0,282	0,252
	2	0,350	0,066	0,284	0,254
	3	0,354	0,070	0,284	0,254
	4	0,352	0,068	0,284	0,254

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,030

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,246	0,004	1,660
1	3	0,248	0,001	0,403
2	4	0,232	0,005	2,125
2	3	0,229	0,001	0,504
3	4	0,254	0,001	0,394
3	3	0,254	0,000	0,000
1+2+3	12	0,244	0,010	4,107

Tab. 26: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Enzymase (300 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,290	0,079	0,211	0,181
	2	0,290	0,083	0,207	0,177
	3	0,287	0,081	0,206	0,176
	4	0,298	0,081	0,217	0,187
2	1	0,296	0,083	0,213	0,183
	2	0,301	0,085	0,216	0,186
	3	0,294	0,080	0,214	0,184
	4	0,302	0,084	0,218	0,188
3	1	0,293	0,082	0,211	0,181
	2	0,294	0,079	0,215	0,185
	3	0,290	0,082	0,208	0,178
	4	0,300	0,079	0,221	0,191

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,030

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,180	0,005	2,769
1	3	0,178	0,003	1,486
2	4	0,185	0,002	1,197
2	3	0,184	0,002	0,829
3	4	0,184	0,006	3,058
3	3	0,181	0,004	1,937
1+2+3	12	0,183	0,005	2,535

Tab. 27: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Enzym gallo sanol (700 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,425	0,092	0,333	0,300
	2	0,430	0,090	0,340	0,307
	3	0,425	0,092	0,333	0,300
	4	0,433	0,094	0,399	0,306
2	1	0,431	0,095	0,336	0,303
	2	0,437	0,095	0,342	0,309
	3	0,440	0,093	0,347	0,314
	4	0,441	0,096	0,345	0,312
3	1	0,451	0,094	0,357	0,324
	2	0,437	0,092	0,345	0,312
	3	0,435	0,094	0,341	0,308
	4	0,436	0,093	0,343	0,310

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,033

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,303	0,004	1,245
1	3	0,302	0,003	1,147
2	4	0,310	0,005	1,550
2	3	0,312	0,003	0,807
3	4	0,314	0,007	2,293
3	3	0,310	0,002	0,645
1+2+3	12	0,309	0,007	2,140

Tab. 28: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Enzypan plus (500 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,336	0,057	0,279	0,246
	2	0,334	0,057	0,277	0,244
	3	0,337	0,058	0,279	0,246
	4	0,334	0,056	0,278	0,245
2	1	0,347	0,073	0,274	0,239
	2	0,347	0,072	0,275	0,240
	3	0,353	0,071	0,282	0,247
	4	0,353	0,071	0,282	0,247
3	1	0,355	0,072	0,283	0,248
	2	0,348	0,072	0,276	0,241
	3	0,353	0,069	0,284	0,249
	4	0,353	0,072	0,281	0,246

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,033 (Tbl. 1)
0,035 (Tbl. 2+3)

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,245	0,001	0,390
1	3	0,246	0,001	0,235
2	4	0,243	0,004	1,788
2	3	0,245	0,004	1,652
3	4	0,246	0,004	1,447
3	3	0,248	0,002	0,617
1+2+3	12	0,245	0,003	1,313

Tab. 29: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Femkalon (500 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,391	0,072	0,319	0,284
	2	0,386	0,072	0,314	0,279
	3	0,382	0,071	0,314	0,276
	4	0,381	0,069	0,312	0,277
2	1	0,395	0,070	0,325	0,290
	2	0,394	0,070	0,324	0,289
	3	0,390	0,069	0,321	0,286
	4	0,383	0,071	0,312	0,277
3	1	0,382	0,074	0,308	0,274
	2	0,377	0,072	0,305	0,271
	3	0,371	0,072	0,299	0,265
	4	0,378	0,073	0,305	0,271

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,035 (Tbl. 1)
0,034 (Tbl. 2+3)

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,279	0,004	1,276
1	3	0,277	0,002	0,551
2	4	0,286	0,006	2,072
2	3	0,288	0,002	0,722
3	4	0,270	0,004	1,397
3	3	0,272	0,002	0,637
1+2+3	12	0,278	0,008	2,772

Tab. 30: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Fermento sanol (650 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,372	0,077	0,295	0,261
	2	0,367	0,076	0,291	0,257
	3	0,362	0,077	0,285	0,251
	4	0,370	0,078	0,292	0,258
2	1	0,378	0,074	0,304	0,270
	2	0,360	0,075	0,285	0,251
	3	0,358	0,072	0,286	0,252
	4	0,362	0,073	0,289	0,255
3	1	0,383	0,077	0,306	0,272
	2	0,366	0,075	0,291	0,257
	3	0,370	0,076	0,294	0,260
	4	0,376	0,080	0,296	0,262

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,034

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,257	0,004	1,633
1	3	0,259	0,002	0,805
2	4	0,257	0,009	3,436
2	3	0,253	0,002	0,824
3	4	0,263	0,007	2,474
3	3	0,260	0,003	0,969
1+2+3	12	0,259	0,007	2,619

Tab. 31: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Festal (300 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,241	0,064	0,177	0,145
	2	0,237	0,066	0,171	0,139
	3	0,234	0,066	0,168	0,136
	4	0,233	0,065	0,168	0,136
2	1	0,237	0,062	0,175	0,143
	2	0,231	0,062	0,169	0,137
	3	0,233	0,063	0,170	0,138
	4	0,239	0,062	0,177	0,145
3	1	0,235	0,063	0,172	0,140
	2	0,233	0,064	0,169	0,137
	3	0,230	0,063	0,167	0,135
	4	0,229	0,062	0,167	0,135

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,032

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,139	0,004	3,052
1	3	0,137	0,002	1,264
2	4	0,141	0,004	2,744
2	3	0,139	0,003	2,307
3	4	0,137	0,002	1,728
3	3	0,136	0,001	0,851
1+2+3	12	0,139	0,004	2,639

Tab. 32: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Helopanzym (260, 252 und 244 mg) Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion Probe	Extinktion Leerwert	Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
1 (260 mg)	1	0,310	0,053	0,257	0,225
	2	0,310	0,054	0,256	0,224
	3	0,312	0,054	0,258	0,226
	4	0,311	0,054	0,257	0,225
2 (252 mg)	1	0,311	0,085	0,226	0,219 0,226+)
	2	0,315	0,084	0,231	0,224 0,231+)
	3	0,312	0,084	0,228	0,221 0,228+)
	4	0,310	0,085	0,225	0,218 0,225+)
3 (244 mg)	1	0,285	0,084	0,201	0,194 0,207+)
	2	0,292	0,084	0,208	0,201 0,214+)
	3	0,287	0,085	0,202	0,195 0,208+)
	4	0,291	0,085	0,206	0,199 0,212+)

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,032 (Tbl. 1)
0,007 Tbl. 2+3)

+) Der Extinktionswert berechnet auf 260 mg Einwaage

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,225	0,001	0,363
1	3	0,225	0,001	0,257
2	4	0,228	0,003	1,163
2	3	0,226	0,002	0,675
3	4	0,210	0,003	1,571
3	3	0,209	0,003	1,266
1+2+3	12	0,221	0,008	3,740

Tab. 33: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Nutrizym Merck (500 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,265	0,088	0,177	0,170
	2	0,261	0,087	0,174	0,167
	3	0,262	0,087	0,175	0,168
	4	0,263	0,087	0,176	0,169
2	1	0,262	0,087	0,175	0,168
	2	0,266	0,088	0,178	0,171
	3	0,261	0,087	0,174	0,167
	4	0,264	0,087	0,177	0,170
3	1	0,270	0,068	0,202	0,169
	2	0,267	0,062	0,205	0,172
	3	0,266	0,062	0,204	0,171
	4	0,268	0,063	0,205	0,172

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,007 (Tbl. 1)
0,033 (Tbl. 2+3)

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,169	0,001	0,766
1	3	0,169	0,001	0,592
2	4	0,169	0,002	1,080
2	3	0,170	0,002	0,900
3	4	0,171	0,001	0,827
3	3	0,172	0,001	0,336
1+2+3	12	0,170	0,002	1,052

Tab. 34: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Ozym (900 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,316	0,075	0,241	0,208
	2	0,305	0,073	0,232	0,199
	3	0,310	0,081	0,229	0,196
	4	0,309	0,076	0,233	0,200
2	1	0,309	0,079	0,230	0,197
	2	0,307	0,080	0,227	0,194
	3	0,307	0,078	0,229	0,196
	4	0,304	0,079	0,225	0,192
3	1	0,307	0,076	0,231	0,198
	2	0,302	0,076	0,226	0,193
	3	0,304	0,077	0,227	0,194
	4	0,313	0,078	0,235	0,202

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,033

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,201	0,005	2,552
1	3	0,198	0,002	1,050
2	4	0,195	0,002	1,139
2	3	0,196	0,002	0,781
3	4	0,197	0,004	2,090
3	3	0,195	0,003	1,357
1+2+3	12	0,197	0,004	2,260

Tab. 35: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Pankreon compositum (280 mg) Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,365	0,074	0,291	0,256
	2	0,364	0,072	0,292	0,257
	3	0,373	0,076	0,297	0,262
	4	0,364	0,074	0,290	0,255
2	1	0,365	0,078	0,287	0,252
	2	0,365	0,075	0,290	0,255
	3	0,365	0,077	0,288	0,253
	4	0,366	0,076	0,290	0,255
3	1	0,361	0,077	0,284	0,249
	2	0,362	0,078	0,284	0,249
	3	0,356	0,078	0,278	0,243
	4	0,370	0,077	0,293	0,258

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,035

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,258	0,003	1,207
1	3	0,256	0,001	0,391
2	4	0,254	0,002	0,591
2	3	0,254	0,001	0,454
3	4	0,250	0,006	2,476
3	3	0,247	0,003	1,402
1+2+3	12	0,254	0,005	1,955

Tab. 36: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Pankreon forte (900 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,470	0,070	0,400	0,365
	2	0,476	0,066	0,410	0,375
	3	0,472	0,068	0,404	0,369
	4	0,475	0,068	0,407	0,372
2	1	0,425	0,082	0,343	0,311
	2	0,435	0,082	0,353	0,321
	3	0,430	0,082	0,348	0,316
	4	0,430	0,082	0,348	0,316
3	1	0,461	0,085	0,376	0,344
	2	0,458	0,085	0,373	0,341
	3	0,460	0,086	0,374	0,342
	4	0,459	0,085	0,374	0,342

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,035 (Tbl. 1)
0,032 (Tbl. 2+3)

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,370	0,004	1,154
1	3	0,372	0,003	0,806
2	4	0,316	0,004	1,292
2	3	0,318	0,003	0,909
3	4	0,342	0,001	0,368
3	3	0,342	0,001	0,169
1+2+3	12	0,343	0,023	6,811

Tab. 37: Meßwerte der enzymatischen Bestimmung von Panpur (900 mg)
Durchschnittliche Extinktion, Standardabweichung und Variationskoeffizienten der Meßwerte, (von allen 4 Meßwerten bzw. den 3 besten Meßwerten pro Tablette und von allen 12 Messungen des Präparates).

Tablette	Probe	Extinktion		Ext. ΔE	ΔE-(III-IV)
		Probe	Leerwert		
1	1	0,331	0,072	0,259	0,227
	2	0,333	0,071	0,262	0,230
	3	0,333	0,071	0,262	0,230
	4	0,331	0,073	0,258	0,226
2	1	0,332	0,072	0,260	0,228
	2	0,334	0,073	0,261	0,229
	3	0,334	0,072	0,262	0,230
	4	0,336	0,071	0,265	0,233
3	1	0,329	0,070	0,259	0,229
	2	0,326	0,070	0,256	0,226
	3	0,330	0,072	0,258	0,228
	4	0,330	0,074	0,256	0,226

Der Korrekturwert betrug: III - IV = 0,032 (Tbl. 1+2)
0,030 (Tbl. 3)

Tablette	Zahl der Meßwerte (n)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
1	4	0,228	0,002	0,903
1	3	0,229	0,002	0,756
2	4	0,230	0,002	0,939
2	3	0,229	0,001	0,437
3	4	0,227	0,002	0,660
3	3	0,227	0,001	0,509
1+2+3	12	0,229	0,002	0,924

Tab. 38: Durchschnittliche Extinktionswerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der 12 Meßwerte von jeweils 3 Tabletten aller Präparate als Gesamtübersicht.

Präparat / Einwaage (in mg)	durchschnittl. Extinktion ΔE ($\bar{x}$)	Standardabweichung (s)	Variationskoeffizient (v_k)
Bilipeptal forte 600	0,299	0,025	8,248
Combiase spezial 500	0,112	0,006	5,414
Combizym compos. 500	0,244	0,010	4,107
Enzymase 300	0,183	0,005	2,535
Enzym gallo san. 700	0,309	0,007	2,140
Enzypan plus 500	0,245	0,003	1,313
Femkalon 500	0,278	0,008	2,772
Fermento sanol 650	0,259	0,007	2,619
Festal 300	0,139	0,004	2,639
Helopanzym 260	0,221	0,008	3,740
Nutrizym Merck 500	0,170	0,002	1,052
Ozym 900	0,197	0,004	2,260
Pankreon compos. 280	0,254	0,005	1,955
Pankreon forte 900	0,343	0,023	6,811
Panpur 900	0,229	0,002	0,924

Tab. 39: Durchschnittliche Extinktionswerte aus den 4 Extinktionswerten bzw. 3 besten Extinktionswerten, die bei den je 3 Tabletten pro Medikament gemessen wurden, und der daraus mit der umgeformten Gleichung der Eichgeraden berechnete Gallensäurengehalt pro Einwaage.

Medikament und Einwaage in mg		ΔE (A) Durchschnitt aus den vier Ext.-Werten	ΔE (B) Durchschnitt aus den drei Ext.-Werten	(A) Gallensäuregehalt pro Einwaage (mg)	(B)
Bilipeptal	1	0,313	0,315	37,50	37,76
forte	2	0,317	0,317	38,03	38,03
600 mg	3	0,266	0,267	31,32	31,45
Combiase	1	0,114	0,111	11,32	10,92
spezial	2	0,113	0,109	11,18	10,66
500 mg	3	0,111	0,108	10,92	10,53
Combizym	1	0,246	0,248	28,68	28,95
compositum	2	0,232	0,229	26,84	26,45
500 mg	3	0,254	0,254	29,74	29,74
Enzymase	1	0,180	0,178	20,00	19,74
300 mg	2	0,185	0,184	20,66	20,53
	3	0,184	0,181	20,53	20,13
Enzym gallo	1	0,303	0,302	36,18	36,05
sanol	2	0,310	0,312	37,11	37,37
700 mg	3	0,314	0,310	37,63	37,11
Enzypan	1	0,245	0,246	28,55	28,68
plus	2	0,243	0,245	28,29	28,55
500 mg	3	0,246	0,248	28,68	28,95
Femkalon	1	0,279	0,277	33,03	32,76
500 mg	2	0,286	0,288	33,95	34,21
	3	0,270	0,272	31,84	32,11

Tab. 39: - Fortsetzung -

Medikament und Einwaage in mg		ΔE (A) Durchschnitt aus den vier Ext.-Werten	ΔE (B) Durchschnitt aus den drei Ext.-Werten	(A) Gallensäurengehalt pro Einwaage in mg	(B)
Fermento	1	0,257	0,259	30,13	30,39
sanol	2	0,257	0,253	30,13	29,61
650 mg	3	0,263	0,260	30,92	30,53
Festal	1	0,139	0,137	14,61	14,34
300 mg	2	0,141	0,139	14,87	14,61
	3	0,137	0,136	14,34	14,21
Helopanzym	1	0,225	0,225	25,92	25,92
260 mg	2	0,228	0,226	26,32	26,05
	3	0,210	0,209	23,95	23,82
Nutrizym	1	0,169	0,169	18,55	18,55
Merck	2	0,169	0,170	18,55	18,68
500 mg	3	0,171	0,172	18,82	18,95
Ozym	1	0,201	0,198	22,76	22,37
900 mg	2	0,195	0,196	21,97	22,11
	3	0,197	0,195	22,24	21,97
Pankreon	1	0,258	0,256	30,26	30,00
compositum	2	0,254	0,254	29,74	29,74
280 mg	3	0,250	0,247	29,21	28,82
Pankreon	1	0,370	0,372	45,00	45,26
forte	2	0,316	0,318	37,89	38,16
900 mg	3	0,342	0,342	41,32	41,32
Panpur	1	0,228	0,229	26,32	26,45
900 mg	2	0,230	0,229	26,58	26,45
	3	0,227	0,227	26,18	26,18

Tab. 40: Gallensäurengehalt der Medikamente. Gehalt der drei Tabletten je Präparat einzeln und im Durchschnitt.

Medikament und Tablettengewicht		(A) Gallensäurengehalt pro Tablette in mg	(B)	(A) Gallensäurengehalt durchschnittlich pro Tablette in mg	(B)
Bilipeptal	1	42,34	42,64		
forte	2	42,94	42,94	40,22	40,36
677,5 mg	3	35,37	35,51		
Combiase	1	12,41	11,97		
spezial	2	12,26	11,69	12,21	11,73
548,1 mg	3	11,97	11,54		
Combizym	1	33,62	33,94		
compositum	2	31,47	31,01	33,32	33,27
586,2 mg	3	34,87	34,87		
Enzymase	1	23,59	23,29		
353,9 mg	2	24,37	24,22	24,06	23,75
	3	24,22	23,75		
Enzym gallo	1	38,30	38,17		
sanol	2	39,29	39,56	39,14	39,01
741,1 mg	3	39,84	39,29		
Enzypan	1	30,16	30,29		
plus	2	29,88	30,16	30,11	30,34
528,13 mg	3	30,29	30,58		
Femkalon	1	36,24	35,94		
548,55 mg	2	37,25	37,53	36,14	36,23
	3	34,93	35,23		
Fermento	1	31,90	32,17		
sanol	2	31,90	31,35	32,18	31,95
688,12 mg	3	32,73	32,32		

Tab. 40: - Fortsetzung -

Medikament und Tablettengewicht		(A) Gallensäurengehalt pro Tablette in mg	(B) Gallensäurengehalt pro Tablette in mg	(A) Gallensäurengehalt durchschnittlich pro Tablette in mg	(B) Gallensäurengehalt durchschnittlich pro Tablette in mg
Festal	1	16,37	16,07		
336,12 mg	2	16,66	16,37	16,37	16,12
	3	16,07	15,92		
Helopanzym	1	28,36	28,36		
284,5 mg	2	28,80	28,50	27,79	27,64
	3	26,21	26,06		
Nutrizym	1	20,55	20,55		
Merck	2	20,55	20,70	20,65	20,75
554,0 mg	3	20,85	21,00		
Ozym	1	23,49	23,09		
929,0 mg	2	22,68	22,82	23,04	22,86
	3	22,96	22,68		
Pankreon	1	32,91	32,63		
compositum	2	32,34	32,34	32,34	32,10
304,5 mg	3	31,77	31,34		
Pankreon	1	47,55	47,82		
forte	2	40,04	40,32	43,75	43,93
951,0 mg	3	43,66	43,66		
Panpur	1	28,67	28,82		
980,5 mg	2	28,96	28,82	28,72	28,72
	3	28,52	28,52		

Tab. 41: Rangfolge der Medikamente nach absolutem Gallensäurengehalt pro Tablette.

Rang	Medikament	(A) Gallensäurengehalt pro Tablette (in mg)	(B)
1	Pankreon forte	43,75	43,93
2	Bilipeptal forte	40,22	40,36
3	Enzym gallo sanol	39,14	39,01
4	Femkalon	36,14	36,23
5	Combizym compositum	33,32	33,27
6	Pankreon compositum	32,34	32,10
7	Fermento sanol	32,18	31,95
8	Enzypan plus	30,11	30,34
9	Panpur Dragées	28,72	28,72
10	Helopanzym	27,79	27,64
11	Enzymase	24,06	23,75
12	Ozym	23,04	22,86
13	Nutrizym Merck	20,65	20,75
14	Festal	16,37	16,12
15	Combiase spezial	12,21	11,73

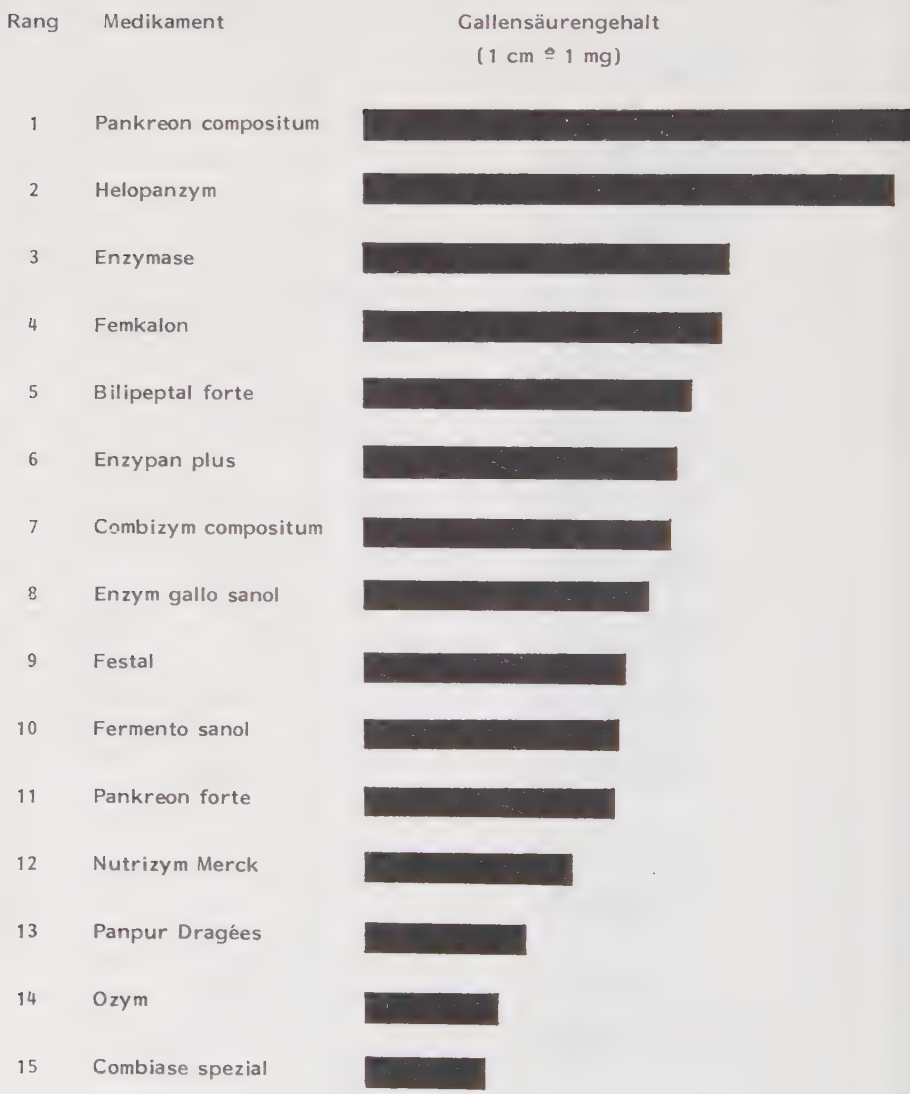
Abb. 7: Rangfolge der Medikamente nach absolutem Gallensäurengehalt pro Tablette.

Rang	Medikament	Gallensäurengehalt (1 cm ≙ 10 mg)
1	Pankreon forte	
2	Bilipeptal forte	
3	Enzym gallo sanol	
4	Femkalon	
5	Combizym compositum	
6	Pankreon compositum	
7	Fermento sanol	
8	Enzypan plus	
9	Panpur Dragées	
10	Helopanzym	
11	Enzymase	
12	Ozym	
13	Nutrizym Merck	
14	Festal	
15	Combiase spezial	

Tab. 42: Rangfolge der Präparate nach Gallensäurengehalt pro 100 mg Tablettengewicht.

Rang	Medikament	(A) Gallensäurengehalt pro Tablette (in mg)	(B)
1	Pankreon compositum	10,62	10,54
2	Helopanzym	9,77	9,72
3	Enzymase	6,80	6,71
4	Femkalon	6,59	6,60
5	Bilipeptal forte	5,94	5,96
6	Enzypan plus	5,70	5,74
7	Combizym compositum	5,68	5,68
8	Enzym gallo sanol	5,28	5,26
9	Festal	4,87	4,80
10	Fermento sanol	4,68	4,64
11	Pankreon forte	4,60	4,62
12	Nutrizym Merck	3,73	3,75
13	Panpur Dragées	2,93	2,93
14	Ozym	2,48	2,46
15	Combiase spezial	2,23	2,14

Abb. 8: Rangfolge der Präparate nach Gallensäurengehalt pro 100 mg Tablettengewicht.



B.) Ergebnisse, Tabellen und Abbildungen zur Bestimmung der Gallensäuren auf dünnschichtchromatographischem Wege

Tab. 43: Wanderstrecken (in cm) und R_f-Werte der unkonjugierten Gallensäuren in reiner Form. Vergleich der R_f-Werte mit den R_f-Werten nach Usui.

Platte	Cholsäure	Desoxycholsäure	Chenodesoxychols.	Dehydrochols.	Lithochols.
1	0,8	4,3	3,85	5,2	9,5
2	0,95	4,8	4,3	5,6	9,65
3	1,0	4,95	4,5	5,7	9,9
4	0,8	4,35	3,9	5,25	9,8
5	0,8	4,25	3,8	5,2	9,55
6	1,0	4,8	4,3	5,5	9,65
7	1,0	5,0	4,5	5,7	9,9
8	0,8	4,3	4,05	5,2	9,8
9	0,9	4,65	4,2	5,5	9,9
10	0,85	4,5	4,15	5,3	9,6
Durchschnitt (gerundet)	0,89	4,59	4,16	5,42	9,73
R_f-Wert (gerundet)	0,06	0,31	0,28	0,36	0,65
R_f-Wert (Usui)	0,08	0,43	0,37	-	0,89
$\frac{R_f\text{-Werte (Usui)}}{R_f\text{-Werte (König)}}$	1,33	1,39	1,32	-	1,37

Tab. 44: Wanderstrecken (in cm) und R_f-Werte der konjugierten Gallensäuren in reiner Form. Vergleich der R_f-Werte mit den R_f-Werten nach Usui.
"Glyco" - Konjugate

Platte	Cholsäure	Desoxycholsäure	Chenodesoxychols.	Dehydrochols.	Lithochols.
1	7,4	10,0	10,0	10,4	11,55
2	7,25	10,0	10,0	10,4	11,55
3	7,35	10,1	10,1	10,4	11,65
4	7,3	10,0	10,0	10,4	11,6
5	7,15	9,95	9,95	10,4	11,7
6	7,2	9,9	9,9	10,45	11,5
7	7,2	9,95	9,95	10,4	11,6
8	7,2	10,0	10,0	10,45	11,6
9	7,15	9,8	9,8	10,4	11,55
10	7,0	9,9	9,9	10,4	11,65
Durchschnitt (gerundet)	7,22	9,97	9,97	10,41	11,60
R_f-Wert (gerundet)	0,48	0,66	0,66	0,69	0,77
R_f-Werte (Usui)	0,56	0,73	-	-	-
$\frac{R_f\text{-Werte (Usui)}}{R_f\text{-Werte (König)}}$	1,17	1,11	-	-	-

Tab. 45: Wanderstrecken (in cm) und R_f-Werte der konjugierten Gallensäuren in reiner Form. Vergleich der R_f-Werte mit den R_f-Werten nach Usui.
"Tauro" - Konjugate

Platte	Cholsäure	Desoxycholsäure	Chenodesoxychols.	Dehydrochols.	Lithochols.
1	3,3	5,9	5,9	6,2	7,8
2	3,2	5,8	5,8	6,2	7,75
3	3,2	5,8	5,8	6,1	7,7
4	3,25	5,8	5,8	6,1	7,65
5	3,2	5,7	5,7	6,0	7,55
6	3,2	5,85	5,85	6,4	7,8
7	3,2	5,8	5,8	6,3	7,75
8	3,3	5,8	5,8	6,25	7,7
9	3,1	5,7	5,7	6,2	7,65
10	3,1	5,6	5,6	6,05	7,5
Durchschnitt (gerundet)	3,21	5,78	5,78	6,18	7,69
R_f-Wert (gerundet)	0,21	0,39	0,39	0,41	0,51
R_f- Werte (Usui)	0,12	0,25	-	-	-
$\frac{R_f\text{-Werte (Usui)}}{R_f\text{-Werte (König)}}$	0,57	0,64	-	-	-

Tab. 46: Gallensäurenmuster und grob quantitative Einschätzung der gefundenen Gallensäuren der untersuchten Medikamente und von reiner Ochsengalle (nach 5.3) Unkonjugierte Gallensäuren.

Medikament	Cholsäure	Desoxy-cholsäure	Chenodes-oxychols.	Dehydro-cholsäure	Litho-chols.
Bilipeptal forte	++	(+)	+	(+)	(+)
Combiase spezial	+++	+	+	o	(+)
Combizym compositum	+++	+	+	(+)	o
Enzymase	++	+	+	(+)	o
Enzym gallo sanol	+++	+	+	(+)	(+)
Enzypan plus	+++	++	+	(+)	(+)
Femkalon	+++	++	+	(+)	(+)
Fermento sanol	++	++	+	(+)	(+)
Festal	++	+	+	o	(+)
Gillazym Sandoz	o	o	o	+++++++	o
Helopanzym	++	++	+++	o	(+)
Nutrizym Merck	++	++	+	(+)	(+)
Ozym	+	+	++	o	o
Pankreon compositum	++	+	+	o	o
Pankreon forte	+++	++	+	o	o
Panpur	++	+	+	o	o
Ochsengalle	+++	+++	++	+	(+)

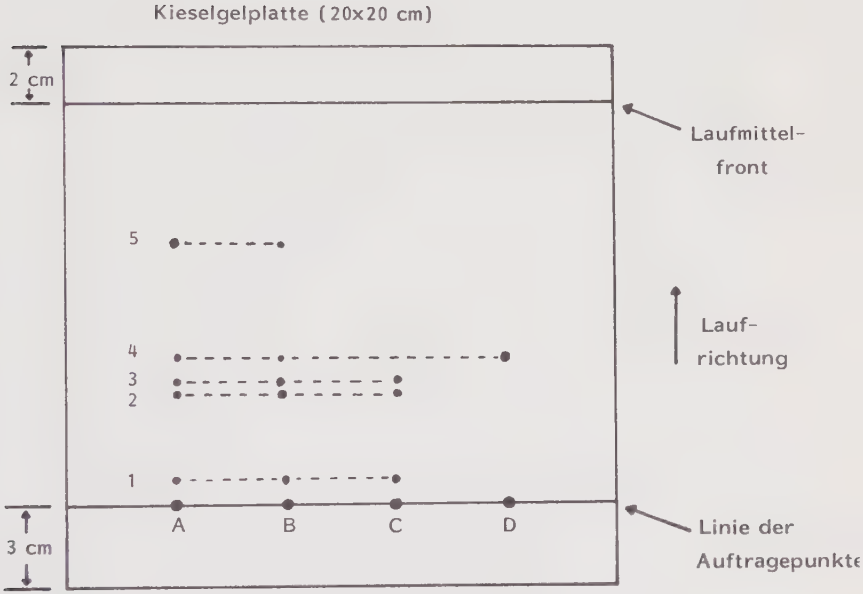
Tab. 47: Gallensäurenmuster und grob quantitative Einschätzung der gefundenen Gallensäuren der untersuchten Medikamente und von reiner Ochsengalle (nach 5.3.).
"Glyco" - Konjugate

Medikament	Cholsäure	Desoxy-cholsäure	Chenodes-oxychols.	Dehydro-cholsäure	Litho-chols.
Bilipeptal forte	o	o	o	o	o
Combiase spezial	+++	++	++	o	o
Combizym compositum	++++	+++	+++	o	o
Enzymase	+	++	++	(+)	o
Enzym gallo sanol	+++	+++	+++	o	o
Enzypan plus	+++	+++	+++	o	o
Femkalon	++++	+++	+++	o	o
Fermento sanol	++++	+++	+++	o	o
Festal	+++	++	++	o	o
Gillazym Sandoz	o	o	o	o	o
Helopanzym	+	+	+	(+)	o
Nutrizym Merck	++	++	++	o	o
Ozym	+	++	++	(+)	o
Pankreon compositum	++++	+++	+++	o	o
Pankreon forte	+++++	+++	+++	o	o
Panpur	+++	++	++	o	o
Ochsengalle	+++	++	++	o	o

Tab. 48: Gallensäurenmuster und grob quantitative Einschätzung der gefundenen Gallensäuren der untersuchten Medikamente und von reiner Ochsengalle (nach 5.3.).
"Tauro" - Konjugate

Medikament	Cholsäure	Desoxy-cholsäure	Chenodes-oxychols.	Dehydro-cholsäure	Li tho-chols.
Bilipeptal forte	o	o	o	o	o
Combiase spezial	+++	++	++	o	o
Combizym compositum	++++	+++	+++	o	o
Enzymase	+	++	++	o	o
Enzym gallo sanol	+++	+++	+++	o	o
Enzypan plus	+++	+++	+++	o	o
Femkalon	++++	+++	+++	o	o
Fermento sanol	++++	+++	+++	o	o
Festal	+++	++	++	o	o
Gillazym Sandoz	o	o	o	o	o
Helopanzym	+	+	+	o	o
Nutrizym Merck	++	++	++	o	o
Ozym	+	++	++	o	o
Pankreon compositum	++++	+++	+++	o	o
Pankreon forte	+++++	+++	+++	o	o
Panpur	+++	++	++	o	o
Ochsengalle	+++	++	++	o	o

Abb. 9: Dünnschichtchromatographie.
Auftrennung der unkonjugierten Gallensäuren aus einem Gemisch derselben als Reinsubstanzen. Parallel dazu Auftrennung und Analyse der Präparate Gillazym Sandoz und Panpur sowie von reiner Ochsengalle.



A = Gallensäurengemisch

B = Ochsengalle

C = Panpur

D = Gillazym Sandoz

1 = Cholsäure

2 = Chenodesoxycholsäure

3 = Desoxycholsäure

4 = Dehydrocholsäure

5 = Lithocholsäure

Danksagung

Mein allerherzlichster Dank gebührt Herrn Professor Dr. med. K.H. Niessen für die Bereitstellung des Themas, das ständig fördernde Interesse an der Arbeit und die stets ausgezeichnete Betreuung.

Lebenslauf

Am 1.8.1957 wurde ich, Jörn König, als Sohn der Eheleute Rudi König und Lore König, geborene Rieker, in Göppingen geboren.

Ich besuchte die Grundschule vom Frühjahr 1964 bis zum Sommer 1965 in Balingen und vom Herbst 1965 bis zum Sommer 1967 in Weilstetten. Im selben Jahr wechselte ich auf das Gymnasium Balingen, wo ich im Mai 1976 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1977 begann ich mit dem Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen.

Die Ärztliche Vorprüfung legte ich im März 1979, den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im März 1980 und den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im März 1982 in Tübingen ab.

Von April 1982 bis März 1983 absolvierte ich mein Praktisches Jahr im Paracelsus-Krankenhaus in Ostfildern-Ruit.

Am 7.4.1983 legte ich den schriftlichen Teil des dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung in Tübingen und am 25.4.1983 den mündlichen Teil in Ostfildern-Ruit ab.